



CENTRO INTERNACIONAL DE ESTUDOS
DE DOUTORAMENTO E AVANZADOS
DA USC (CIEDUS)

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS ONCOLÓGICOS
EN EL CÁNCER COLO-RECTAL METASTÁSICO, MEDIANTE LA
VALORACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL FRENTE DE
INVASIÓN TUMORAL EN LA ZONA DE TRANSICIÓN
EPITELIO MESÉNQUIMA EN EL TUMOR PRIMARIO COLO-
RECTAL Y EN LA METÁSTASIS HEPÁTICA.**

FRANCISCO JAVIER GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

DIRECTOR: D. RAFAEL LÓPEZ LÓPEZ

CO-DIRECTORES:

D. MANUEL PEDRO BUSTAMANTE MONTALVO Y

D. JOSE RAMÓN ANTÚNEZ LÓPEZ

TUTOR: D. FRANCISCO BARREIRO MORANDEIRA.



DECLARACIÓN DO AUTOR DA TESE

**ESTUDIO DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS ONCOLÓGICOS
EN EL CÁNCER COLO-RECTAL METASTÁSICO, MEDIANTE LA
VALORACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL FRENTE DE INVASIÓN**

D. Francisco Javier González Rodríguez

- 1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
- 2) De selo caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
- 3) A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide coa versión enviada en formato electrónico.
- 4) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.

En Santiago de Compostela, a _____ de 2019

Asdo.: Francisco Javier González Rodríguez



AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

ESTUDIO DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS ONCOLÓGICOS
EN EL CÁNCER COLO-RECTAL METASTÁSICO, MEDIANTE LA
VALORACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL FRENTE DE INVASIÓN
TUMORAL EN LA ZONA DE TRANSICIÓN EPITELIO MESÉNQUIMA EN
EL TUMOR PRIMARIO COLO-RECTAL Y EN LA METÁSTASIS HEPÁTICA

D. A

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D.
Francisco Javier González Rodríguez, baixo a miña
dirección, e autorizo a súa presentación, considerando que
reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de
Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre
nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Santiago de Compostela,de 2019

Asdo.:

INDICE.

AUTORIZACIÓN DODIRECTOR/TITOR DA TESE.....	4
1. INTRODUCCIÓN	10
1.1 CLÍNICA.....	10
1.1.1 Impacto de los síntomas en el pronóstico	11
1.2 DIAGNÓSTICO.....	12
1.2.1 Colonoscopia	12
1.2.1.1 Colonoscopia incompleta	14
1.2.2 Pruebas de laboratorio y marcadores tumorales	14
1.3 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	15
1.4 ESTADIAJE	16
1.4.1 Estadiaje clínico	19
1.4.1.2 TC.....	19
1.4.1.3 RM hepática	20
1.4.1.4 PET Scan	20

1.4.1.5 Estadiaje loco-regional del cáncer de recto.....	21
1.5 PRINCIPIOS ONCOLÓGICOS EN LA RESECCIÓN DEL CÁNCER DE COLON.....	21
1.6 QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE	23
1.7 QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE	24
1.8 RADIOTERAPIA POST-OPERATORIA	25
1.9 QUIMIO-RADIOTERAPIA NEOADYUVANTE EN EL CÁNCER DE RECTO	26
1.10 TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLO-RECTAL METASTÁSICO	29
1.10.1 Técnica quirúrgica.....	34
1.10.1.1 Quimioterapia neoadyuvante.....	38
1.10.1.2. Embolización portal pre-operatoria.....	39
1.10.1.3. Tratamiento local para la enfermedad metastásica	40
1.10.1.4. Hepatectomía en dos tiempos.....	41
1.10.2 Tratamiento de la recidiva	43
1.10.3 Tratamiento quimioterápico tras la resección	43
1.10.4 Seguimiento tras la resección	44
1.11 ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL CÁNCER COLO- RECTAL.....	45
1.12 FACTORES PRONÓSTICOS	47
1.12.1 Factores pronósticos de categoría I.....	48
1.12.1.1 Extensión local del tumor.....	48
1.12.1.2 Ganglios linfáticos.....	49
1.12.1.3 Ganglios mesentéricos.....	50
1.12.1.4 Micrometástasis ganglionares	50
1.12.1.5 Invasión vascular.....	51

1.12.1.6 Tumor residual	51
1.12.1.7 Niveles séricos de CEA.....	52
1.12.2 Factores pronósticos de categoría IIA	53
1.12.2.1 El grado tumoral.....	53
1.12.2.2 Margen circunferencial	53
1.12.2.3 La regresión del tumor tras el tratamiento neoadyuvante	54
1.12.3 Factores de categoría IIB	55
1.12.3.1 Tipo histológico.....	55
1.12.3.2 Déficit de proteínas reparadoras del DNA y la existencia de infiltrado linfocitario tumoral.....	55
1.12.3.3 Delección 18q.....	57
1.12.3.4 El margen de invasión tumoral.....	58
1.12.3.5 Invasión perineural.....	58
1.12.4 Factores de categoría III.....	59
1.12.4.1 Contenido de DNA.....	59
1.12.4.2 Otros marcadores tumorales.....	59
1.12.4.3 K-ras y el beneficio de los tratamientos diana contra el factor de crecimiento epidérmico	61
1.12.4.4 La densidad de microvasos	61
1.12.4.5 Moléculas de superficie celular.....	61
1.12.4.6 Fibrosis peritumoral y respuesta inflamatoria.....	62
1.13 IMPORTANCIA DEL MARGEN DE INVASIÓN TUMORAL Y DE LA ZONA DE TRANSICION EPITELIO-MESÉNQUIMA EN LA PROGRESIÓN TUMORAL.....	62
1.13.1 Modulación fenotípica en la progresión tumoral y mecanismos fisiopatológicos generales de la transición epitelio mesénquima	66

1.13.2 Tumor budding y frente de invasión tumoral	71
1.13.3 Regulación epigenética de la TEM	74
1.13.4 Opciones terapéuticas y TEM.....	76
1.13.5 Zona de transición epitelio-mesénquima y la respuesta al tratamiento neoadyuvante	77
MATERIAL Y MÉTODO.....	82
2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO	82
2.2 HIPÓTESIS	82
2.3 OBJETIVOS	83
2.4 METODO	85
2.4.1 Estudio preoperatorio	85
2.4.2 Tratamiento quirúrgico.....	86
2.4.3 Seguimiento post-operatorio	87
2.4.4 Resultados a corto plazo.....	88
2.4.5 Estudio anatómo-patológico.....	88
2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	96
3. RESULTADOS.....	98
4. DISCUSIÓN.....	139
4.1 COMORBILIDAD	140
4.2 PRUEBAS DE IMAGEN PREOPERATORIAS	143
4.3 NÚMERO DE METÁSTASIS, MARGEN DE RESECCIÓN Y, LOCALIZACIÓN DE METÁSTASIS HEPÁTICAS.....	143
4.4 CIRUGÍA.....	148
4.5 CEA PRE-HEPATECTOMÍA.....	149
4.6 METÁSTASIS SINCRÓNICAS VS METACRÓNICAS.	150
4.7 ENFERMEDAD EXTRAHEPÁTICA	154

4.8 TRATAMIENTO QUIMIOTERÁPICO	156
4.8.1 Tratamiento quimioterápico adyuvante.....	157
4.8.2 Tratamiento quimioterápico neoadyuvante	159
4.9 RESULTADOS A LARGO PLAZO. SUPERVIVENCIA GLOBAL. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD	166
4.10 RECURRENCIA DE LA ENFERMEDAD	169
4.11 ANALISIS INMUNOHISTOQUÍMICO EN LA ZONA DE TRANSICIÓN EPITELIO-MESÉNQUIMA DEL MARGEN TUMORAL DE LA NEOPLASIA COLO-RECTAL Y DE LA METÁSTASIS HEPÁTICA	172
4.11.1 Cadherinas	176
4.11.2 Vimentina	180
4.11.3 CD44	181
4.11.4 CDX2	184
4.11.5 MUC-2	188
5. CONCLUSIONES.....	192
6. BIBLIOGRAFÍA.....	193

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer colo-rectal es el tumor maligno más frecuente en España, se diagnostican aproximadamente unos 22.000 nuevos casos al año, y una tercera parte fallecen como consecuencia directa de la enfermedad debido al desarrollo de metástasis. Aunque la mortalidad del cáncer colo-rectal ha ido disminuyendo progresivamente un 3% al año desde 1990, representa la tercera causa de muerte por cáncer en Estados Unidos[1].

1.1 CLÍNICA

Los pacientes con cáncer colo-rectal se pueden diagnosticar de tres formas:

- Pacientes con signos y síntomas sospechosos de cáncer colo-rectal.
- Pacientes asintomáticos diagnosticados a través de un programa screening en un Servicio de Salud, o de forma incidental en el contexto de otra patología.
- Pacientes con una complicación del tumor: obstrucción intestinal, peritonitis, o con menos frecuencia hemorragia digestiva baja.

La mayoría de los pacientes con cáncer de colon en un estadio precoz no tienen síntomas y su diagnóstico es posible gracias a un programa de screening. Cada vez se diagnostican más pacientes asintomáticos, sin embargo, en la actualidad la mayor parte de las veces es sólo posible tras el inicio de los síntomas consecuencia del crecimiento intraluminal del tumor o de la infiltración de órganos adyacentes, y, por lo tanto, con un estadio tumoral más avanzado[2].

Los síntomas asociados al cáncer colo-rectal son: rectorragia, hematoquezia, melenas, dolor abdominal, anemia ferropénica y, cambios en el hábito intestinal. El dolor abdominal, las náuseas y los vómitos son indicativos de una obstrucción intestinal y se producen en tumores con un crecimiento intraluminal. Las manifestaciones clínicas dependen de la localización del tumor:

- Las alteraciones del hábito intestinal son más frecuentes en los tumores localizados en el colon descendente, porque

cuanto más proximal esté el tumor más líquido es el contenido del colon y es más difícil que se produzcan síntomas obstructivos.

- La hematoquezia y la rectorragia son consecuencia del sangrado de tumores localizados en el rectosigma.
- La anemia ferropénica es frecuente en los tumores localizados en el colon derecho. Los tumores localizados en el ciego y en el colon ascendente producen una pérdida diaria de sangre cuatro veces superior a la de los tumores de otras localizaciones (9 mL/día aproximadamente).
- El dolor abdominal se puede producir en tumores con cualquier localización, debido a una obstrucción, a una diseminación peritoneal, o a una perforación intestinal.
- El cáncer rectal provoca rectorragia, tenesmo, dolor rectal y heces acintadas.

Los pacientes también presentan síntomas en relación a su enfermedad metastásica. Aproximadamente un 20% de los pacientes debutan con metástasis en el momento del diagnóstico del cáncer colo-rectal. Su diseminación puede ser hematógena, linfática, por contigüidad o transperitoneal. La localización más frecuente de las metástasis son los ganglios linfáticos, el hígado, los pulmones y el peritoneo. El dolor localizado en hipocondrio derecho, la distensión abdominal, la saciedad precoz, la existencia de adenopatías supraclaviculares, o nódulos peritoneales son indicativos de enfermedad metastásica avanzada.

Debido al drenaje venoso del intestino a través del sistema portal, el primer lugar de la diseminación hematógena es el hígado, posteriormente los pulmones, el hueso y el cerebro. Sin embargo, los tumores localizados en el recto distal metastatizan en primer lugar a los pulmones debido a que el drenaje venoso del recto inferior se dirige directamente hacia la vena cava inferior y no al sistema venoso portal[3].

1.1.1 Impacto de los síntomas en el pronóstico

Los pacientes sintomáticos en el momento del diagnóstico suelen tener una enfermedad más avanzada y un pronóstico peor. En un estudio

realizado en 1071 pacientes diagnosticados de cáncer colo-rectal, se observó que aquellos diagnosticados por su sintomatología y no dentro de un programa de screening presentan una mayor invasión tumoral, una mayor infiltración ganglionar, una mayor enfermedad metastásica, una mayor recurrencia tumoral y una menor supervivencia e intervalo libre de enfermedad[4].

El número total de síntomas se correlaciona inversamente con la supervivencia en el cáncer de colon (no así en el cáncer de recto). No está clara la relación entre la duración de los síntomas y su influencia en el pronóstico. La obstrucción intestinal y la perforación intestinal conllevan un peor pronóstico independientemente del estadio, razón por la que los pacientes con ganglios linfáticos negativos que debutan con una obstrucción o perforación colónica tienen un pronóstico peor, lo que es determinante en muchos casos para la administración de quimioterapia adyuvante[5].

Los tumores que debutan con rectorragia (generalmente localizados en el colon distal o en el recto), tienen un mejor pronóstico debido a que se diagnostican en estadios tumorales iniciales, a pesar de ello, la hemorragia digestiva no es un predictor independiente de supervivencia[6].

1.2 DIAGNÓSTICO

1.2.1 Colonoscopia

Se realizará una colonoscopia en los pacientes con sospecha de cáncer colo-rectal por sintomatología, porque tienen factores de riesgo, o en el contexto de un programa de screening se debe realizar una colonoscopia. La mayor parte de los tumores diagnosticados son histológicamente adenocarcinomas. La colonoscopia es la prueba diagnóstica más precisa para el diagnóstico del cáncer colo-rectal, permite la localización de las lesiones y su biopsia, la detección de neoplasias sincrónicas y, la exéresis de pólipos. La realización de una rectoscopia en pacientes con sintomatología proctológica sirve para el diagnóstico de tumores de localización rectal y para determinar exactamente la distancia al margen anal, lo que tiene implicaciones terapéuticas. Los cánceres colo-rectales sincrónicos, con una

incidencia del 5% son aquellos en los que existe uno o más tumores diagnosticados durante los primeros 6 meses tras el diagnóstico del tumor primario, separados por un segmento de intestino normal, y que no son la consecuencia de su extensión local o al desarrollo de metástasis. La incidencia es algo menor (alrededor del 2,5%), una vez que se han excluido los pacientes con síndrome de Lynch (cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis).

La mayoría de los tumores bajo visión endoscópica son masas endoluminales que nacen de la mucosa y crecen hacia la luz. Los tumores pueden ser exofíticos o polipoides. Puede observarse una hemorragia en las lesiones cuando éstas son friables, necróticas o ulceradas. El crecimiento circunferencial en el interior de la pared intestinal se correlaciona con la clásica imagen radiológica de “carozo de manzana”.

Existe un pequeño porcentaje de lesiones neoplásicas en el tracto gastrointestinal (tanto en pacientes asintomáticos como sintomáticos) que son planas o deprimidas. Existen estudios en los que se ha observado una mayor correlación entre las lesiones no polipoideas y el desarrollo de carcinoma. Los cánceres originados en adenomas no polipoideos (planos) se visualizan endoscópicamente con mayor dificultad que las lesiones polipoideas, pero la colonoscopia sigue teniendo en esta situación una mayor sensibilidad que el enema de bario o la ColonoTC[7].

En las lesiones visibles endoscópicamente se pueden obtener muestras para el estudio histológico mediante la biopsia, el cepillado y la polipectomía. En las lesiones que se extirpan completamente por endoscopia (mediante polipectomía, resección endoscópica de la mucosa o disección submucosa endoscópica), el tatuado es muy importante para la localización a posteriori en el caso de tratarse de una neoplasia invasiva y sea necesaria su resección, realizándose adyacente o a pocos centímetros distales a la lesión.

En los pacientes asintomáticos, el porcentaje de falsos negativos en manos de un endoscopista con experiencia se sitúa entre el 2 y el 6%, aunque puede ser superior en el caso de los tumores localizados en el colon derecho[8].

1.2.1.1 Colonoscopia incompleta

El porcentaje de una colonoscopia incompleta en pacientes sintomáticos es de aproximadamente del 11 al 12%, y ello es debido a la incapacidad del endoscopista para alcanzar el tumor o para visualizar la mucosa proximal por razones técnicas (un tumor que provoca una obstrucción completa o parcial, un colon tortuoso, una mala preparación) o por la incapacidad del paciente para tolerar la exploración. En este contexto la ColonoTC es muy sensible en el diagnóstico radiológico del cáncer colo-rectal, se conoce también como colonoscopia virtual, porque proporciona una imagen virtual de la luz colónica. Es necesario una TC (Tomografía Computerizada) helicoidal para obtener un volumen ininterrumpido de datos, que son analizados por un complejo software, de tal forma que el radiólogo puede navegar en el interior del colon en cualquier dirección. Es necesaria la preparación mecánica del colon debido a que las heces pueden simular la existencia de pólipos. Se indica en aquellos pacientes en los que no se puede obtener una colonoscopia completa de todo el colon, o en los que se encuentran ocluidos o parcialmente ocluidos y no es posible sobrepasar el tumor con el colonoscopio[9].

Tanto la colonoscopia como la ColonoTC tienen una capacidad diagnóstica similar en los pacientes asintomáticos para la detección del cáncer colo-rectal y pólipos grandes, pero hay que tener en cuenta factores como son la exposición a la radiación o, la necesidad de una re-exploración con colonoscopia tras una Colono-TC positiva para indicarla como prueba diagnóstica inicial. La ColonoTC permite además diagnosticar lesiones extracolónicas, que podrían explicar los síntomas del paciente y aportar información acerca del estadio tumoral. La colonoscopia permite la exéresis de pólipos, la biopsia de lesiones, y el diagnóstico de tumores sincrónicos, por lo que es todavía Gold standard para el estudio de los pacientes con síntomas sugestivos de cáncer colorrectal[10].

1.2.2 Pruebas de laboratorio y marcadores tumorales

Existen marcadores tumorales relacionados con el cáncer colo-rectal (CEA, Ca 19-9), todos tienen una baja sensibilidad para el diagnóstico del tumor primario en estadios precoces, pueden elevarse

en el contexto de una patología benigna: gastritis, ulcus péptico, diverticulitis, enfermedad hepática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes, en cualquier proceso inflamatorio agudo o crónico; y se eleva significativamente en los pacientes fumadores. Por ello, no se recomienda la medición de CEA ni Ca19-9 para el diagnóstico del cáncer colo-rectal. Sin embargo, los niveles de CEA tienen un gran valor en el seguimiento de los pacientes. Las guías de la “Sociedad Americana de Oncología” (ASCO) recomiendan la obtención de los niveles de CEA preoperatoriamente para la evaluación del pronóstico, y durante los primeros cinco años de seguimiento tras la resección quirúrgica[11, 12]:

- Los niveles séricos de CEA tienen utilidad pronóstica en los pacientes diagnosticados de cáncer colo-rectal. Los pacientes con un nivel sérico preoperatorio de CEA>5ng/mL tienen un peor pronóstico, estadio por estadio en comparación con los pacientes con niveles bajos.
- Unos niveles elevados de CEA preoperatoriamente y que no se normalizan tras la resección quirúrgica indican persistencia de la enfermedad y es necesaria una re-evaluación del paciente.

1.3 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Los signos y síntomas asociados al cáncer colo-rectal no son específicos, por ello, el diagnóstico diferencial es muy amplio, sobre todo entre los pacientes que presentan dolor abdominal o rectorragia. Existen muchos signos y síntomas que se manifiestan además de en el cáncer colo-rectal en otras patologías benignas como son la patología hemorroidal, la enfermedad diverticular del colon, o la enfermedad inflamatoria intestinal.

El diagnóstico diferencial de una masa colónica que se determina mediante un estudio radiológico u endoscópico incluye varios procesos benignos y malignos, por ello es necesaria la realización de una biopsia. Existen una serie de procesos malignos además del adenocarcinoma que se pueden observar en el intestino grueso, como son el sarcoma de Kaposi, linfomas, tumores carcinoides (tumores neuroendocrinos bien diferenciados), y metástasis de otros tumores malignos primarios[13].

- El sarcoma de Kaposi diseminado que incluye al colon, se manifiesta con unos nódulos y máculas violáceos[14].
- El linfoma no-Hodkin primario del intestino grueso, afecta sobre todo al ciego, colon derecho y recto, y generalmente se manifiesta en adultos en fases avanzadas de la enfermedad. El linfoma colónico de forma característica es una masa solitaria, a veces puede presentarse como múltiples lesiones polipoideas o como una infiltración difusa[15].
- Los tumores carcinoides del colon se localizan con mayor frecuencia en el apéndice, en el recto y en el ciego, a una edad más temprana que los adenocarcinomas. Los localizados en el apéndice y en el recto suelen ser lesiones de un tamaño inferior a 2 cm, submucosas e indolentes, sin embargo, los tumores carcinoides del colon, son tumores grandes, con una imagen radiológica de carozo de manzana, agresivos y con alto poder metastásico.
- La mayoría de las metástasis de otros tumores primarios suelen tener un origen ovárico, y simulan un tumor primario colónico.

1.4 ESTADIAJE

Una vez realizado el diagnóstico del cáncer colo-rectal, la extensión local y a distancia de la enfermedad determina el tratamiento y el pronóstico de los pacientes. Es fundamental revisar la biopsia del tumor antes de tomar una decisión acerca de la necesidad de estudios clínicos y de una resección quirúrgica, sobre todo en los pólipos con cáncer invasivo. De hecho, aquellos pólipos con una zona de cáncer invasivo, que han sido completamente resecados y que carecen hallazgos histológicos adversos (margen positivo, pobremente diferenciados, invasión linfovascular) tienen un riesgo bajo de desarrollar metástasis ganglionares y a distancia, por lo que la polipectomía es suficiente como tratamiento. Dichos aspectos son mucho más fáciles de determinar si se trata de un pólipo pediculado.

El cáncer colo-rectal puede diseminarse por vía linfática, hematógena, por continuidad y sin duda por vía transperitoneal. Los lugares de diseminación metastásica más frecuentes son los ganglios linfáticos, el hígado y los pulmones. Debido a que el drenaje venoso del tubo

digestivo es el sistema portal, el primer lugar de diseminación hematógena se produce al hígado, y a continuación a los pulmones, hueso, y cerebro. Sin embargo, los tumores localizados en el recto distal suelen metastatizar en primer lugar a los pulmones debido a que las venas del recto inferior tienen un mayor drenaje hacia la vena cava que hacia el sistema venoso portal[16].

La clasificación TNM del “American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control”, es el sistema de estadiaje más empleado en el cáncer colo-rectal. Las antiguas clasificaciones de Duke y Astler y Collier ya no se emplean[17].

La clasificación TNM del año 2010 incluye una serie de modificaciones en relación a la del 2002:

- Subdivisión de las lesiones T4 en T4a (el tumor perfora el peritoneo visceral) y T4b (invasión directa o adherencia a otros órganos o estructuras).
- División del estadio II en IIA (T3N0), IIB (T4N0) y IIC (T4N0).
- N1 y N2 son subdivididas en relación al número de ganglios invadidos.
- Los depósitos tumorales extratumorales en ausencia de enfermedad ganglionar se clasifica como N1c.
- M1 se subdivide en M1a (enfermedad metastásica única) y M1b (metástasis múltiples).

La última actualización TNM corresponde a la octava edición del año 2017, que contiene muy pocos cambios en relación a la previa. Se introduce el estadio M1c para reflejar la existencia de carcinomatosis peritoneal como un factor de mal pronóstico, y se introduce el concepto de micrometástasis ganglionares (grupos celulares neoplásicos con un tamaño superior a 0.2mm)[18, 19].

Aunque no se emplean en el estadiaje, se recomienda considerar una serie de factores pronósticos importantes para decidir acerca del tratamiento de los pacientes: CEA preoperatorio, el margen de resección circunferencial, la presencia o ausencia de invasión perineural y linfovascular, la inestabilidad de microsátélites (que refleja un déficit de las proteínas reparadoras del DNA y predice la ausencia de respuesta al tratamiento con fluoropyrimidinas), la mutación de los genes KRAS,

NRAS, BRAF (ausencia de respuesta al tratamiento con anticuerpos dirigidos contra el factor de crecimiento epidérmico) y el grado de regresión tumoral (para los tumores que recibieron tratamiento neoadyuvante con radioterapia, quimioterapia, o radio-quimioterapia). Se pueden emplear para el estadiaje clínico los hallazgos radiológicos, endoscópicos, e intraoperatorios, sin embargo, para el estadiaje patológico (pT, pN, pM) es necesario el examen histológico de la pieza quirúrgica. La quimioterapia y la radioterapia preoperatoria pueden alterar de forma significativa el estadiaje clínico, por ello es necesario designar al estadiaje patológico post-tratamiento con el prefijo yp (yt, yN).

Tradicionalmente el término carcinoma in situ se refiere a células epiteliales malignas que no penetran en la membrana basal ni invaden el estroma subyacente. Sin embargo, en el estadiaje del carcinoma colorectal, la categoría pTis incluye la invasión estromal de las células malignas a través de la lámina propia hasta la muscular de la mucosa, debido a que a diferencia del resto del tubo digestivo y de otros órganos, en la mucosa del intestino grueso no existen linfáticos estromales, y por tanto los tumores que no invaden la muscular de la mucosa no tienen acceso a los ganglios linfáticos regionales y por lo tanto no pueden metastatizar. Por ello se recomienda diferenciar dos tipos de lesiones diferentes dentro de la categoría pTis, los carcinomas intraepiteliales (sin invasión estromal) y los carcinomas intramucosos (con invasión de la mucosa estromal).

En pacientes seleccionados, la quimio-radioterapia neoadyuvante produce una reducción del estadio tumoral, y su pronóstico está determinado por el estadio patológico post tratamiento, al que se le asigna el prefijo yp (ypT, ypN) en la clasificación AJCC. Entre los pacientes con cáncer de recto que reciben tratamiento neoadyuvante, los que tienen una respuesta patológica completa con erradicación del tumor, tienen mucho mejor pronóstico que aquellos con tumor residual, sobre todo cuando existe enfermedad ganglionar. De la misma forma si los pacientes tienen una mínima enfermedad residual su pronóstico será mejor que si tienen una gran enfermedad residual.

1.4.1 Estadíaje clínico

El estadíaje preoperatorio debe incluir un examen físico (para determinar especialmente la existencia de ascitis, hepatomegalia, ganglios, y el grado de fijación en los cánceres de recto), una TC de abdomen y pelvis, y una prueba de imagen del tórax (RX de tórax o TC torácico). La determinación de las transaminasas en el preoperatorio se realiza con mucha frecuencia, pero tiene muy poca utilidad porque en el contexto de pequeñas lesiones metastásicas hepáticas suelen tener un valor normal. La fosfatasa alcalina es la que se asocia con mayor frecuencia a la presencia de metástasis hepáticas.

1.4.1.2 TC

Las guías clínicas de la NCCN recomiendan la realización previa a la intervención quirúrgica de una TC tóraco-abdomino-pélvica en los pacientes con un estadio II, III y, IV; porque la estrategia terapéutica es diferente en función de los hallazgos[20].

En los pacientes con cáncer colo-rectal, la TC abdomino-pélvica preoperatoria proporciona información acerca de la extensión regional del tumor, de la existencia de metástasis ganglionares y a distancia, y de las complicaciones relacionadas con el tumor (obstrucción, perforación, formación de fístulas). La sensibilidad de la TC para el diagnóstico de metástasis es mayor (75% a un 87%) que para el diagnóstico de las metástasis ganglionares (45% a un 73%) y que para la invasión transmural (aproximadamente del 50%). La sensibilidad de la TC para el diagnóstico de la invasión ganglionar linfática metastásica es mayor para los tumores de recto que para los de colon, porque las adenopatías perirrectales se consideran que son malignas, mientras que las adenopatías benignas no se observan en esta localización en ausencia de un proceso inflamatorio (proctitis, fístula, absceso perirrectal)[21]. La TC no es una prueba diagnóstica fiable para la evaluación de la existencia de implantes tumorales pequeños en las superficies peritoneales. La sensibilidad de la TC para el diagnóstico de los implantes peritoneales depende de la localización y del tamaño de los implantes. La sensibilidad para el diagnóstico de nódulos inferiores a 0.5 cm es de un 11% y sólo del 37% para implantes entre 0,5 y 5 cm[22].

El beneficio clínico del estadiaje rutinario con una TC torácica es controvertido. Teóricamente, la imagen del tórax tiene más valor en el cáncer de recto debido a que el drenaje venoso del recto inferior a través de las venas hemorroidales hacia la cava, evita el hígado, haciendo que las metástasis pulmonares sean más frecuentes. El principal problema es la frecuencia relativamente elevada de lesiones pulmonares indeterminadas (10 a un 30%)[23]. Generalmente, la presencia de metástasis ganglionares en el momento de la resección, las lesiones pulmonares múltiples, un tamaño superior a 5 cm, y una localización parenquimatosa sugieren malignidad; mientras que las lesiones calcificadas sugieren benignidad. En definitiva, el riesgo de malignidad para los nódulos pulmonares indeterminados es de aproximadamente un 1%, lo que parece suficientemente bajo para que el diagnóstico preoperatorio sea innecesario[24, 25].

1.4.1.3 RM hepática

La resonancia hepática se emplea en los pacientes con sospecha lesiones metastásicas en el TC, y es necesario tomar una decisión terapéutica, sobre todo en aquellas potenciales resecables. En la actualidad, el empleo de contrastes hepatoespecíficos (PRIMA VIST), ha aumentado la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico de la enfermedad metastásica hepática, lo que ha permitido una mejor planificación de la estrategia quirúrgica[26].

1.4.1.4 PET Scan

La tomografía de emisión de positrones no parece que aporte más información que la TC en el estadiaje rutinario del cáncer colorrectal, no obstante, puede ser útil para localizar el lugar de recurrencia en los pacientes con CEA elevado en los que no se localiza con las pruebas de imagen convencionales. El PET puede localizar la enfermedad oculta y permite seleccionar a los pacientes que se beneficiarían de una laparotomía exploradora. Puede ser útil antes de la resección quirúrgica en los pacientes con cáncer de colon y metástasis hepáticas, para reducir el número de laparotomías no terapéuticas. Se ha observado que la quimioterapia disminuye la sensibilidad del PET

en el diagnóstico de las metástasis del cáncer de colon, debido a que produce una disminución de la actividad metabólica del tumor[27, 28].

1.4.1.5 Estadiaje loco-regional del cáncer de recto

Es necesario localizar el tumor dentro del recto y determinar la extensión de la enfermedad para seleccionar a los pacientes susceptibles de quimiorradioterapia neoadyuvante. El tacto rectal, la rectoscopia, la ecografía endoscópica transrectal y la RM pélvica proporcionan la información necesaria para decidir si el paciente es subsidiario de una resección local, de una resección radical o si precisa de un tratamiento quimio-radioterápico neoadyuvante[29].

1.5 PRINCIPIOS ONCOLÓGICOS EN LA RESECCIÓN DEL CÁNCER DE COLON

La resección quirúrgica representa la única opción terapéutica con intención curativa. Tanto en las neoplasias localizadas como en aquellas con afectación metastásica, el objetivo de la cirugía es la resección completa del tumor, de los pedículos vasculares principales, y del drenaje linfático del segmento de colon afectado. Los vasos sanguíneos se seccionan en su origen para obtener una resección amplia y maximizar el número de ganglios extirpados. Si existiese infiltración de los órganos adyacentes habría que realizar una resección multivisceral con un margen amplio y libre de enfermedad. Se debe restaurar la continuidad del intestino grueso mediante una anastomosis primaria sin tensión. Si se considerase indicada la radioterapia post-operatoria, el epiplón mayor se moviliza para proteger el intestino delgado y se marca con clips la zona a radiar[30].

Todavía no se ha demostrado la utilidad del ganglio centinela en el tratamiento de los pacientes con cáncer de colon, de hecho, se han realizado varios estudios multicéntricos en los que la determinación del ganglio centinela ha fracasado, sobre todo en estadios III y IV[31].

La hemicolectomía derecha está indicada en los pacientes con tumores localizados en el ciego, en el colon ascendente y en algunos localizados en el ángulo hepático. La hemicolectomía derecha ampliada se realiza en los pacientes con tumores del ángulo hepático y del colon transverso

proximal. La colectomía transversa puede emplearse en los pacientes con tumores localizados en la parte media del colon transverso obteniendo un margen de resección y una linfadenectomía adecuada, es una técnica poco empleada debido a que la mayoría de los tumores no tienen una localización tan medial, es difícil realizar una anastomosis sin tensión y suele ser necesaria una hemicolectomía derecha o izquierda ampliada para realizar una linfadenectomía correcta. La hemicolectomía izquierda está indicada en los pacientes con tumores localizados en la parte distal del colon transverso o en el colon descendente, y en algunos pacientes con tumores localizados en sigma. La sigmoidectomía está indicada en los pacientes con tumores localizados en sigma. La colectomía total o subtotal es necesaria en los pacientes con neoplasias sincrónicas en el colon, a veces se emplea en pacientes con tumores obstructivos del colon izquierdo; está indicada también en los pacientes con cáncer colo-rectal hereditario no asociado a poliposis, en los pacientes con poliposis adenomatosa familiar y en los pacientes con poliposis asociada al gen MUTYH. No existen estudios clínicos que recomienden la ooforectomía profiláctica en pacientes con cáncer de colon y ovarios normales, debido a que no se ha observado ningún beneficio en la supervivencia con este procedimiento[32, 33].

Aproximadamente un 10% de los pacientes con cáncer colo-rectal presenta invasión de los órganos y estructuras vecinas. Las guías clínicas del “National Comprehensive Cancer Network (NCCN)”, “National Cancer Institute (NCI)”, “American Society of colon and rectal surgeons” recomiendan la realización de una resección multivisceral con márgenes libres de tumor en aquellos casos en los que el tumor ha crecido e infiltra los órganos adyacentes. La resección multivisceral permite un control de la enfermedad a nivel local y un aumento de la supervivencia. De hecho, en los trabajos publicados recientemente se describen tasas de supervivencia similares a las de los pacientes intervenidos en estadíos más precoces con resecciones limitadas al colon, aunque la morbilidad perioperatoria es superior. El plano de adherencia entre el tumor y las estructuras adyacentes se debe respetar porque en el 40 % de los casos existe

enfermedad neoplásica en dichas adherencias, y su liberación provocaría un empeoramiento del pronóstico[34].

El tratamiento de los pacientes con tumores obstructivos depende de la situación clínica del paciente y de la localización del tumor. En los tumores localizados en el colon izquierdo se suele realizar una resección y una anastomosis con o sin una ileostomía de protección. La colocación de una prótesis colónica en pacientes seleccionados puede ser una opción, porque permite la descompresión y la preparación del colon para una cirugía programada, sobre todo en aquellos pacientes con comorbilidad asociada y que se beneficiarían de optimizar su situación clínica. En los tumores localizados en el colon derecho se realiza una resección y anastomosis primaria.

El tratamiento de los pacientes con tumores perforados debe individualizarse, depende de su situación clínica y de la existencia de una peritonitis localizada o difusa. Se recomienda no realizar una anastomosis primaria si existe una peritonitis difusa, una perforación libre a la cavidad abdominal o si el paciente está inestable hemodinámicamente, o tiene mucha comorbilidad asociada[35].

La decisión de una resección quirúrgica del colon tras la resección endoscópica de un pólipo con cáncer invasivo depende de los hallazgos histológicos, y está indicada en los siguientes casos[36, 37]:

- Tumores pobremente diferenciados.
- Invasión linfovascular.
- Márgenes infiltrados por el tumor.
- Invasión de la muscular propia en el intestino grueso (T2).
- Carcinoma invasivo en un pólipo plano con hallazgos histológicos desfavorables (penetración en la porción más profunda de la submucosa, invasión linfovascular, pobremente diferenciado).
- Carcinoma invasivo con una polipectomía incompleta.

1.6 QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE

La quimio-radioterapia neoadyuvante se podría considerar en pacientes con tumores localizados en el colon localmente avanzados que invaden estructuras y órganos adyacentes, sin embargo, los datos acerca de su posible beneficio no son concluyentes, las series descritas son limitadas y cuentan con un número muy limitado de pacientes. La mayoría de los

autores recomiendan que cuando la enfermedad es potencialmente resecable se realice una resección multivisceral de entrada sin tratamiento neoadyuvante para evitar su toxicidad. Por ello, las guías clínicas de NCCN recomiendan únicamente el tratamiento con quimioterapia en los pacientes que son médicamente inoperables o en aquellos que tienen tumores inoperables[38].

1.7 QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE

El objetivo del tratamiento de los pacientes sometidos a una resección potencialmente curativa del cáncer de colon es la erradicación de las micrometástasis para reducir la probabilidad de recurrencia de la enfermedad e incrementar la posibilidad de curación. El beneficio de la quimioterapia adyuvante se ha demostrado ampliamente en los pacientes con estadio III, en los que se ha observado una reducción del 30% en el riesgo de recurrencia de la enfermedad y una reducción de entre un 22 a un 32 % de la mortalidad[39].

La mayoría de los tratamientos implican la combinación de varios fármacos quimioterápicos, que se administran por vía intravenosa, en un orden específico, un número determinado de días. En los pacientes con cáncer de colon y ganglios positivos, se recomienda una línea de tratamiento que contenga oxaliplatino, con una duración de seis meses, aunque el beneficio del oxaliplatino en los pacientes ancianos es controvertido[40].

En los pacientes resecados con ganglios negativos (estadio II), tanto el beneficio de la quimioterapia como del empleo de oxaliplatino es muy controvertido y la decisión de emplear tratamiento quimioterápico debe individualizarse y se han de tener en cuenta los siguientes factores : la presencia de hallazgos clínico patológicos de alto riesgo (menos de 12 ganglios en la pieza quirúrgica, estadio T4, tumor perforado u obstruido, pobremente diferenciado, invasión linfovascular o perineural), el estado de las proteínas reparadoras (MMR), la comorbilidad asociada, y los riesgos potenciales del tratamiento quimioterápico[40].

La quimioterapia provoca una gran toxicidad, que incluye el desarrollo de mucositis, náuseas, vómitos, diarrea, neutropenia febril, fatiga, pérdida de peso, síndrome de mano-pie (dolor, enrojecimiento, pérdida

de la piel de las palmas y de las manos) y cardiotoxicidad. La frecuencia y severidad de dichos efectos secundarios se correlaciona con el tipo de fármacos empleados y en cómo se administran. Afortunadamente la mayoría de los síntomas revierten al suspender el tratamiento y son muy poco frecuentes los efectos secundarios tardíos o a largo plazo con excepción del oxaliplatino que puede producir neuropatía periférica persistente. La mortalidad relacionada con la quimioterapia tiene es del 0.5 al 1%[41].

Las líneas de tratamiento basadas en oxaliplatino más empleadas son FOLFOX (oxaliplatino, fluoracilo y leucovorin) y CAPOX (también conocido como XELOX, oxaliplatino y capecitabina oral). Es necesario para el tratamiento con FOLFOX un catéter venoso central y una bomba de infusión ambulatoria. La administración de oxaliplatino de la línea XELOX puede realizarse a través de una vía periférica, aunque la mayor parte de los pacientes precisan de un catéter venoso central debido al dolor.

A la mayoría de los pacientes con un estadio II se les ofrece un tratamiento que no incluye oxaliplatino, generalmente se emplea leucovorin-fluoracilo o simplemente capecitabina oral[42].

1.8 RADIOTERAPIA POST-OPERATORIA

La radioterapia post-operatoria no se emplea rutinariamente tras una resección oncológica de un cáncer de colon. Sin embargo, tiene indicación en pacientes con cáncer de recto que no la habían recibido previamente, con ganglios afectados e invasión transmural, porque la recurrencia es mayor en los pacientes con cáncer de recto debido a la anatomía de la pelvis y a la dificultad de obtener unos márgenes de resección correctos. Se pueden beneficiar de un tratamiento con radioterapia adyuvante los pacientes con cáncer de colon con alto riesgo de recurrencia, aunque no existe una clara evidencia científica de ello en todos los estudios que se han realizado, por ello las guías clínicas sugieren que la radioterapia adyuvante se puede tener en cuenta en los pacientes con enfermedad T4 con penetración o fijación a las estructuras vecinas, o en aquellos casos en los que los márgenes de

resección han sido positivos o la enfermedad se ha complicado por la perforación o por la formación de abscesos[43].

1.9 QUIMIO-RADIOTERAPIA NEOADYUVANTE EN EL CÁNCER DE RECTO

La resección quirúrgica es el pilar fundamental en el tratamiento con intención curativa en el cáncer de recto. Únicamente los tumores pequeños y con invasión superficial, se pueden tratar con procedimientos quirúrgicos limitados como la resección local. Sin embargo, la mayor parte de los pacientes tienen tumores que producen una infiltración profunda de la pared rectal y requieren una cirugía mayor (resección anterior o una amputación abdominoperineal). Hay pacientes con tumores localmente avanzados que infiltran los órganos y estructuras adyacentes: sacro, paredes de la pelvis, próstata y vejiga; en estos casos el tratamiento quirúrgico y oncológico varía en función del estadio y de su localización en el recto. Los tumores localizados en el recto medio y superior se tratan con una resección anterior baja, una anastomosis colo-rectal con preservación de esfínteres. Aunque el resultado del funcionamiento ano-rectal puede no ser perfecto, el riesgo de la disfunción sexual y urinaria es menor con la preservación de los nervios pélvicos autonómicos, lo que es posible en la mayoría de los casos realizando una escisión total del mesorrecto.

El tratamiento de los pacientes con tumores localizados en el recto inferior (tumores localizados a menos de 5 cm del margen anal) es más complicado, porque es más difícil el control local del tumor y la preservación de los esfínteres. La amputación abdominoperineal se considera desde hace mucho tiempo la intervención adecuada en los pacientes con tumores localizados a menos de 6 cm del margen anal porque proporciona un excelente control local de la enfermedad y una excelente supervivencia, pero produce una alta incidencia de disfunción sexual y urinaria además de que el paciente será portador de una colostomía definitiva[44, 45].

Se pueden emplear una cirugía conservadora de esfínteres en los tumores localizados en el recto inferior en dos situaciones[46, 47]:

1. En pacientes con tumores rectales pequeños localizados en la pared del recto (T1 o T2), las técnicas de resección local ofrecen un control local y un rango de supervivencia comparable al que proporciona una amputación abdomino-perineal, pero con la preservación de la función de los esfínteres.

2. En pacientes con tumores grandes e invasivos que tras recibir quimio-radioterapia neoadyuvante, sufren una regresión tumoral importante.

La quimio-radioterapia neoadyuvante es una estrategia empleada cada vez con más frecuencia en el tratamiento del cáncer de recto. En relación a los resultados obtenidos en los estudios más significativos, se puede afirmar que la única indicación definitiva para la quimio-radioterapia neoadyuvante se encuentra en los pacientes con tumores T3 y T4, y en pacientes con ganglios linfáticos malignos. Son indicaciones relativas la presencia un tumor distal de recto en el cual sea necesaria una resección abdomino perineal, o un tumor que por las pruebas de imagen invada la fascia mesorrectal; porque disminuye la posibilidad de obtener un margen de resección circunferencial libre de tumor si se realiza una cirugía directa[48, 49].

El tratamiento preoperatorio tiene una menor toxicidad a largo plazo y menos recurrencia local que el tratamiento post-operatorio. El tratamiento óptimo en los pacientes con tumores T3N0 clínico (estadiaje basado en la resonancia y en la ecoendoscopia preoperatoria) no está claro, de hecho, muchos de estos pacientes tienen un pronóstico tan favorable que se ha planteado la necesidad de un tratamiento adyuvante post-operatorio tras una resección total del mesorrecto de entrada.

En todos los casos, los pacientes deben conocer la posibilidad de no recibir un tratamiento quimioterápico post-operatorio si los hallazgos patológicos son favorables. Sin embargo, debido al efecto de disminución de estadio que provoca la neoadyuvancia, la estadificación ganglionar no es real, y se recomienda dicho tratamiento durante 6 meses[50].

Todavía no se ha establecido cuál es el mejor esquema de tratamiento neoadyuvante. En la mayoría de los pacientes se emplea radioterapia y quimioterapia de ciclo largo. Existen algunos centros en los que se

emplea únicamente un ciclo corto de radioterapia como tratamiento estándar preoperatorio en el cáncer de recto, sobre todo en los pacientes con enfermedad metastásica asociada, para minimizar el retraso del inicio del tratamiento sistémico. En los pacientes sometidos a un tratamiento neoadyuvante de ciclo largo el esquema que se emplea con más frecuencia es el siguiente:

Infusión continua de 5-fluoracilo (5-FU, 225 mg/m² /24 horas), durante todo el tratamiento con radioterapia (también puede emplearse como tratamiento adyuvante en el cáncer de recto).

Capecitabina oral (825 mg/m² dos veces al día, cinco días por semana), como alternativa.

No está claro el beneficio del oxaliplatino neoadyuvante en el tratamiento del cáncer de recto, porque provoca una toxicidad mucho mayor, y salvo en el contexto de un ensayo clínico no se recomienda.

El tratamiento quirúrgico es el tratamiento fundamental tras la quimio-radioterapia neoadyuvante en los pacientes que son médicamente operables, incluso tras una respuesta clínica completa. No existe en la actualidad evidencia científica que permita tras un tratamiento neoadyuvante evitar una cirugía radical o una excisión local del tumor tras una respuesta completa[51].

Tras la resección quirúrgica, la mayor parte de los pacientes que han recibido quimio-radioterapia neoadyuvante, son tratados durante seis meses con quimioterapia basada en 5-fluoracilo, independientemente de los hallazgos patológicos. No está clara cuál es la mejor línea de tratamiento. Existen varias opciones válidas:

- FOLFOX.
- XELOX: capecitabina y oxaliplatino.
- Bolos semanales de 5-FU y una dosis elevada de leucovorin (500 mg/m² semanalmente durante 6 u 8 semanas).
- Régimen de Gramont: ciclo corto de 5-FU y leucovorin.
- Capecitabina.
- 5-FU (500 mg/m² diario durante cinco días cada cuatro semanas).

La mayor parte de los autores emplean rutinariamente líneas de tratamiento que incluyen oxaliplatino en los pacientes que han recibido tratamiento neoadyuvante independientemente del estadio yp, pero

sería muy razonable utilizarlo selectivamente en aquellos pacientes con un menor grado de respuesta al tratamiento preoperatorio neoadyuvante (yp T3-4 o ganglios positivos).

No está claro el papel de la radioterapia pélvica en los pacientes con metástasis hepáticas potencialmente resecables. Existen múltiples alternativas: resección y quimioterapia adyuvante, quimioterapia neoadyuvante seguida de un ciclo corto de radioterapia y resección quirúrgica, quimioterapia neoadyuvante y radioterapia convencional fraccionada seguida de la resección en un tiempo del tumor primario y de las metástasis hepáticas, etc.[52, 53]

La radioterapia administrada intraoperatoriamente tras la resección de la tumoración, es una opción en los pacientes en los que no es posible conseguir un margen de resección libre de tumor o éste es milimétrico y, en los pacientes que presentan una recidiva pélvica de una tumoración rectal[54].

1.10 TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLO-RECTAL METASTÁSICO

El hígado es el receptor universal de metástasis y en una tercera parte de los pacientes es el único órgano diana. Existen múltiples posibilidades para el tratamiento local de la enfermedad metastásica, como son la resección quirúrgica, la ablación local del tumor con radiofrecuencia o crioterapia, la quimioterapia hepática intra-arterial, la quimio-embolización, la irradiación hepática selectiva con microesferas cargadas con Ytrio90 implantadas a través de la arteria hepática y, la radioterapia. De todos ellos el único que ha demostrado un aumento significativo de la supervivencia es el tratamiento quirúrgico[55].

En los últimos años se han producido importantes avances quirúrgicos; el aumento de la supervivencia en estos pacientes ha sido consecuencia de un aumento de la indicación de la resección de la enfermedad metastásica en pacientes seleccionados y de una quimioterapia más efectiva. Hemos abandonado antiguos dogmas en la cirugía hepática que impedían la resección de metástasis en aquellos pacientes con más

de tres lesiones en un lóbulo, o cuando no era posible obtener un margen de resección superior al centímetro, adoptando así una actitud mucho más agresiva en el tratamiento de las metástasis hepáticas del cáncer colo-rectal[56].

La historia natural de los pacientes con metástasis hepáticas de cáncer colo-rectal está bien documentada, ningún paciente sobrevive sin tratamiento. Esta historia cambia drásticamente con la cirugía y los avances en el tratamiento quimioterápico y/o con los nuevos agentes biológicos. Hay pacientes con metástasis hepáticas que en un principio no eran candidatos a una hepatectomía, y que tras varios ciclos de quimioterapia ésta fue posible; pacientes que tras un tratamiento quirúrgico y quimioterápico con intención curativa presentaron recidiva hepática o extrahepática pero que gracias a los nuevos fármacos han tenido supervivencias con enfermedad muy prolongadas; y pacientes a los que hemos intervenido de sus tumores primarios y de la enfermedad hepática con una supervivencia libre de enfermedad de varios años, y que posteriormente ha sido necesaria la re-hepatectomía, o incluso han sido subsidiarios de resección de recidivas del tumor primario mediante exanteraciones pélvicas o peritonectomías localizadas y que han sobrevivido muchos años con enfermedad. Es importante un seguimiento clínico, bioquímico y radiológico estricto de cada uno de los pacientes porque desconocemos su evolución: curación o cronificación de la enfermedad con una buena calidad de vida[57].

Desde 1940, año en el que Cattell realizó la primera resección hepática por enfermedad metastásica, la cirugía hepática ha aumentado exponencialmente, especialmente en las tres últimas décadas, y representa la única oportunidad de curación para los pacientes con metástasis de cáncer colo-rectal localizadas en el hígado. La supervivencia demostrada en las series quirúrgicas oscila entre el 24 y el 58 %, con una media del 40%, y una mortalidad quirúrgica inferior al 5%. Una tercera parte de los pacientes que sobreviven a los cinco años fallecen por una causa relacionada con el cáncer, y aquellos que sobreviven a los diez años los consideramos curados[58].

La resección hepática tiene un impacto positivo en el aumento de la supervivencia y es el tratamiento de elección; desafortunadamente sólo el 20% de los pacientes con metástasis localizadas en el hígado son

candidatos a una intervención quirúrgica, los demás son considerados como irresecables debido al tamaño tumoral, a su localización, a la multifocalidad y a una inadecuada reserva hepática.

Algunos pacientes con enfermedad inicialmente irresecable se convierten en resecables como consecuencia del éxito del tratamiento quimioterápico. El porcentaje es variable y depende de una serie de factores que incluyen la percepción subjetiva del cirujano hepático en cuanto a la posibilidad de resección (5 al 15%). Las guías clínicas actuales, sugieren que los pacientes con enfermedad metastásica hepática de origen colo-rectal que inicialmente se manifiestan como irresecables, deberían clasificarse en potencialmente convertibles o inconvertibles, de tal forma que, aquellos considerados como inconvertibles reciban un tratamiento quimioterápico paliativo, a diferencia de los potencialmente convertibles que recibirían un tratamiento quimioterápico neoadyuvante más intenso[59].

La selección de pacientes para el tratamiento quirúrgico en aquellos casos en los que existan dudas sobre la posibilidad de resección es muy variable entre los cirujanos hepáticos, y los criterios varían en función del centro hospitalario, y de la localización geográfica. No obstante, existe consenso para contraindicar la resección hepática cuando exista una enfermedad extrahepática irresecable, cuando la comorbilidad quirúrgica contraindique la cirugía, o cuando fuese necesaria para eliminar toda la enfermedad una resección que supere al 70% del hígado o a seis segmentos hepáticos[60].

Hay pacientes en los que por sus características la recidiva va a ser la norma y van a tener una supervivencia peor. Para tratar de identificarlos se han realizado multitud de estudios. Son factores de mal pronóstico relacionados con el tumor primario: el adenocarcinoma pobremente diferenciado, mucinoso o de alto grado y la infiltración vascular. Y relacionados con las metástasis, la existencia de afectación extrahepática, un tamaño superior a 5 cm, un número superior a cuatro, la satelitosis, la bilobularidad, la sincronicidad, el intervalo corto de aparición en las metacrónicas, el CEA elevado antes y después del tratamiento quimioterápico, la respuesta radiológica a la quimioterapia (probablemente uno de los factores pronósticos más relevantes), y la respuesta completa patológica a la quimioterapia (la ausencia de células

tumorales en el estudio anatómo-patológico de la pieza de resección tiene un pronóstico muy favorable). Los asociados con la cirugía serían el margen quirúrgico afectado y la resección muy extensa[61].

Incluso se han establecido sistemas de medición preoperatorios con cuatro o cinco factores de mal pronóstico para intentar ver qué pacientes van a evolucionar negativamente tras la cirugía. Los sistemas de medición de riesgo que predicen cuáles son los pacientes que tendrán un mayor beneficio con una resección quirúrgica, tienen una utilidad clínica muy limitada, sobre todo entre los pacientes que reciben tratamiento neoadyuvante. Hoy en día se asume de forma generalizada que todos los tumores pueden ser resecados siempre que exista un remanente hepático suficiente. Para valorar una resección hepática se precisa una evidencia radiológica previa a la cirugía de que no existe infiltración de la arteria hepática, ni de los conductos hepáticos principales, ni de la vena porta, ni de la existencia de ganglios linfáticos para-aórticos o celíacos; y de que exista, aunque sea de forma predictiva una adecuada reserva funcional hepática post-resección. La RM hepática y la ecografía hepática intraoperatoria permiten conocer con exactitud el tamaño de las metástasis, el número, y la proximidad a las estructuras vasculares y biliares. La RM con contraste del hígado tiene una mayor capacidad de detectar metástasis que el TC, y se considera el estudio de imagen de primera elección para la evaluación de los pacientes con metástasis hepáticas de cáncer colo-rectal. Para indicar la resección de metástasis hepáticas ha de garantizarse la resección del tumor primario y de toda enfermedad extrahepática, siendo necesaria una colonoscopia en los seis meses previos a la resección de las metástasis hepáticas para descartar una segunda neoplasia colo-rectal o una recurrencia en la anastomosis[62].

Hasta hace no muchos años se consideraban una contraindicación absoluta para la resección hepática a aquellos pacientes con más de tres metástasis, cuando existía una distribución bilobar (afectación de segmentos en el hemi-hígado derecho y en el izquierdo), cuando no era posible conseguir un margen quirúrgico superior a un cm, cuando existían ganglios linfáticos periportales, metástasis extrahepáticas, o en aquellos pacientes con metástasis de tumores diferentes a los colo-rectales. Sin embargo, estas contraindicaciones han cambiado[63, 64]:

- Es posible gracias a los avances en cirugía hepática y a un mejor tratamiento quimioterápico la resección de metástasis múltiples e incluso bilobares, obteniendo supervivencias a los 5 y 10 años del 47 y del 29%, (en pacientes con más de nueve metástasis se han observado supervivencias superiores al 24%)[65].

- Obtener un margen libre es fácil en pacientes con pocas metástasis bien localizadas mientras que es muy difícil en pacientes con múltiples metástasis, en donde conseguir márgenes libres o amplios es poco menos que imposible. De todos modos, si es posible conseguir resecar toda la enfermedad incluso con márgenes ínfimos no se debería contraindicar la cirugía porque la supervivencia siempre será mayor. Existen varios estudios multicéntricos en los que se ha valorado el margen de resección, y no se han observado diferencias en cuanto al porcentaje de recurrencia hepática en relación a los mm que distan en la pieza quirúrgica del borde de resección, salvo en aquellos casos en los que dicho borde esté efectivamente afectado y tanto la supervivencia como la tasa de recurrencia hepática están significativamente alteradas[66].

- Las metástasis ganglionares periportales son una contraindicación para la resección hepática porque no existe supervivencia a los 5 años. En el año 2008 se publicó un estudio en el que se obtuvo una supervivencia del 18% a los 5 años en un grupo muy seleccionado de pacientes que habían recibido quimioterapia neoadyuvante con adenopatías periportales. Por ello, existe la posibilidad de considerar como candidatos a la resección hepática a los pacientes con una mínima enfermedad ganglionar localizada en el ligamento hepatoduodenal, con una respuesta favorable al tratamiento quimioterápico y siempre que no existan otros datos de mal pronóstico[67, 68].

- No es contraindicación la existencia de enfermedad extrahepática, siempre y cuando sea reseable porque en aquellos pacientes en los que se pueda conseguir un R0 en el tiempo de la hepatectomía pueden llegar a tener una supervivencia del 29% a los 5 años[69].

El PET scan de todo el cuerpo puede identificar radiológicamente enfermedad extrahepática oculta y optimizar la selección de los

pacientes para la resección hepática, evitando laparotomías no terapéuticas, por ello las guías clínicas de la NCCN recomiendan el estadiaje con un PET scan en los pacientes con metástasis de cáncer colo-rectal potencialmente resecables[70].

Aunque la laparoscopia puede identificar metástasis intraperitoneales, evitando una laparotomía innecesaria, se empleará de manera selectiva en aquellos pacientes con un mayor riesgo de enfermedad metastásica oculta, pero cómo podemos identificar a dichos pacientes. Podríamos emplear los viejos paradigmas (intervalo libre de tumor inferior a 12 meses, metástasis múltiples, CEA > 200 ng/ml, metástasis superior a los 5 cm) pero en la actualidad la mayoría de los pacientes reciben tratamiento quimioterápico previo a la cirugía. Así reservamos la laparoscopia para aquellos casos en los que exista la sospecha radiológica de un pequeño volumen de carcinomatosis (TC, RMN, PET), cuando exista una presentación metacrónica de las metástasis sin una respuesta favorable a la quimioterapia, y por supuesto en aquellos pacientes en los que se plantee de entrada una resección laparoscópica de la enfermedad[71].

1.10.1 Técnica quirúrgica

Se tiene que realizar la extirpación de toda la enfermedad metastásica con un margen suficiente. Resecar sólo una parte con la intención paliativa de disminuir la carga tumoral para confiar después en que un tratamiento con quimioterapia elimine el resto de la enfermedad no tiene razón de ser ya que la supervivencia no sólo no mejora, sino que en muchos casos empeora porque se añade la morbilidad quirúrgica.

A veces es necesario realizar una resección anatómica en la cual se resecan uno o más segmentos de acuerdo a la terminología de la “International Hepato-Pancreato-Biliary Association” (IHPBA), o una resección atípica. La resección hepática anatómica a priori podría parecer un procedimiento más oncológico, técnicamente es más fácil y con un menor sangrado intraoperatorio, pero implica una resección de parénquima hepático mucho mayor, con un riesgo sobreañadido de insuficiencia hepática post-operatoria, sin demostrar una mayor

supervivencia, ni un mejor resultado oncológico que el proporcionado por una resección atípica[72].

La elección del tipo de hepatectomía depende del tamaño, localización, número de metástasis y de la relación con las estructuras vasculares y biliares; por ello se admite de forma general para las metástasis pequeñas y superficiales una resección atípica o una metastasectomía, mientras que para las de gran tamaño o múltiples localizadas en un mismo lóbulo una resección anatómica[73].

La ecografía intraoperatoria se emplea en la cirugía hepatobiliar desde la década de los años ochenta, y se ha convertido en un procedimiento imprescindible en todas las resecciones hepáticas, porque permite la identificación de lesiones pequeñas no palpables de 2-3mm, define la relación de la tumoración hepática con las estructuras vasculares y biliares intrahepáticas; determinando de esta forma la resecabilidad tumoral y definiendo el procedimiento quirúrgico más apropiado, de hecho en una tercera parte de los pacientes el cirujano debe modificar su estrategia. Tiene una sensibilidad y especificidad superior al 90%, sólo comparable a la RM hepática de última generación[74].

El momento más adecuado para la resección hepática en los pacientes con cáncer colo-rectal y metástasis hepáticas sincrónicas no ha sido todavía definido. Parece lógico que en los pacientes sintomáticos con clínica de obstrucción o de sangrado, se realice la resección del tumor primario, se administre tratamiento quimioterápico y a continuación se realice la resección de las metástasis hepáticas.

Si el tumor primario es asintomático, se suele administrar tratamiento quimioterápico y a continuación se realiza la resección del tumor primario y de las metástasis. La resección simultánea del tumor primario y de la enfermedad metastásica sería factible sin aumentar la morbilidad de los pacientes en aquellos casos en los que existiese un bajo volumen de enfermedad hepática (cuatro o menos metástasis, a ser posible localizadas en el mismo lóbulo hepático), y no fuese necesario realizar una hepatectomía mayor. La resección de toda la enfermedad en un tiempo quirúrgico evitaría una segunda laparotomía, y permitiría el inicio precoz del tratamiento quimioterápico adyuvante; sin embargo, en estudios recientes no se han observado diferencias en cuanto a la

supervivencia entre la cirugía en uno o en dos tiempos, pero si una mayor morbimortalidad a favor del primer procedimiento. Por ello, cuando hay cinco o más metástasis de forma simultánea, enfermedad bilobar, o enfermedad en el límite de la resecabilidad, la mejor opción es la administración de quimioterapia neoadyuvante, la resección del tumor primario y por último la resección de la enfermedad metastásica[75].

No obstante, existen grupos, que inician el tratamiento con quimioterapia neoadyuvante agresiva eficaz frente a las metástasis hepáticas y el tumor primario, basada fundamentalmente en el uso de oxaliplatino o irinotecán con anticuerpos monoclonales, seguido de la resección de las metástasis hepáticas y posteriormente del tumor primario colo-rectal, a lo que se le ha llamado resección inversa o secuencial inversa. Se operan las metástasis en primer lugar porque de su resecabilidad depende el pronóstico del paciente. La posibilidad de este tipo de tratamiento depende de que el tumor primario sea asintomático o con sintomatología tratable por métodos endoscópicos y, de la situación general del paciente que permita el uso de quimioterapia. Los objetivos de la resección inversa son: controlar las metástasis al mismo tiempo que el primario con la quimioterapia, administrar precozmente la quimioterapia sistémica, evitar la cirugía paliativa del primario y sus posibles complicaciones[76].

Si un paciente tiene un cáncer de recto con metástasis hepáticas sincrónicas, ésta sería una muy buena opción, porque el tratamiento neoadyuvante y la resección de las metástasis hepáticas a continuación permitirían el empleo de una quimiorradioterapia pélvica correcta, y una resección del tumor de recto oncológicamente correcta.[77]

En las metástasis metacrónicas, algunos autores recomiendan una cirugía temprana para evitar la progresión de la enfermedad. Otros recomiendan esperar semanas o incluso meses para ver la evolución de la enfermedad y seleccionar para la resección quirúrgica a aquellos pacientes en los que no se produce una progresión de la enfermedad y que por lo tanto se beneficiarán de ella. Afortunadamente con el tratamiento quimioterápico tenemos un test de tiempo de una forma más segura, se reduce el tamaño de las lesiones existentes y facilita la resección quirúrgica a posteriori. En éste sentido es interesante un

estudio efectuado por el grupo del Hospital Paul Brousse en el que han observado que en pacientes con 4 o más metástasis, los enfermos con progresión de la enfermedad a pesar del tratamiento quimioterápico neoadyuvante tuvieron una supervivencia muy inferior a aquellos con estabilización o regresión de la enfermedad (3% vs 21%)[78].

Hasta hace poco tiempo, los pacientes con un tumor primario resecable y metástasis hepáticas irresecables eran intervenidos quirúrgicamente para extirpar el tumor primario y evitar la aparición de complicaciones. En la actualidad, el uso de prótesis por vía endoscópica, ha permitido evitar resecciones colo-rectales con un mínimo beneficio paliativo, que aumentarían la morbilidad y que retrasarían una quimioterapia potencialmente curativa.

Es muy probable que la cirugía laparoscópica hepática suplante en el futuro a la cirugía convencional de la misma forma que ha sucedido con la cirugía de la vesícula biliar. La cirugía laparoscópica hepática es una técnica considerada segura que ha permitido reducir la estancia post-operatoria, las pérdidas hemáticas y la morbilidad en las resecciones hepáticas menores con los mismos resultados oncológicos que en la cirugía abierta. Se han publicado series de pacientes con cáncer de colon y recto con metástasis sincrónicas hepáticas en las que se ha realizado la resección laparoscópica combinada en un solo tiempo. Sin embargo, son necesarias series mayores y estudios prospectivos que confirmen las ventajas de este tratamiento combinado[79].

La única posibilidad de supervivencia a largo plazo es la resección quirúrgica, se evitará la resección incompleta del tumor porque los resultados oncológicos son similares a los pacientes no intervenidos quirúrgicamente. El hecho de no poder extirpar la totalidad del tumor preservando una cantidad suficiente de parénquima hepático funcional (al menos un 30% del volumen hepático inicial), constituye la principal causa de irresecabilidad debido al alto riesgo de insuficiencia hepática post-operatoria. Existen diferentes estrategias onco-quirúrgicas para aumentar la resecabilidad en tumores en los que a priori, sería imposible conseguir una resección R0 garantizando la supervivencia del paciente en el post-operatorio[80].

1.10.1.1 Quimioterapia neoadyuvante

Se administra de forma neoadyuvante en los pacientes con metástasis sincrónicas para valorar la evolución y la respuesta antes de realizar una resección quirúrgica; en los pacientes con metástasis metacrónicas resecables para disminuir su tamaño y facilitar su resección, y en los pacientes con metástasis consideradas como irresecables en un intento de conseguir una posibilidad de resección. El grupo de Adam et al, observó con la administración de tratamiento neoadyuvante una alta tasa de respuesta permitiendo la resección quirúrgica en un 13.5% de los pacientes considerados inicialmente irresecables, con una supervivencia a los cinco años del 34% [81].

Los criterios óptimos de selección, el régimen específico de tratamiento, la duración de la neoadyuvancia, y la forma en la que la quimioterapia y la cirugía deberían de ser aplicadas en los pacientes enfermedad metastásica sincrónica todavía están por definir.

El hecho de que se conozcan cada vez más las complicaciones derivadas del tratamiento neoadyuvante, especialmente con oxaliplatino e irinotecan (toxicidad hepática: síndrome de obstrucción sinusoidal, esteatosis hepática y esteatohepatitis; aumento de las complicaciones perioperatorias tras la resección hepática), ha disminuido el entusiasmo inicial de la quimioterapia preoperatoria y ha limitado sus indicaciones. El uso de quimioterapia preoperatoria ha provocado nuevos interrogantes técnicos como el qué hacer con las lesiones que desaparecen tras su administración. Hasta ahora la opinión cuasi unánime era resecar el segmento donde se ubicaba la lesión que había desaparecido, aunque esto era casi más teórico que práctico. Con los nuevos quimioterápicos sabemos que hasta en el 7% de las ocasiones va a haber una auténtica esterilización de la enfermedad metastásica. En vista a esto Elías et al, han comprobado en un estudio que en un grupo de pacientes en los que no se realizó la resección de la enfermedad que había desaparecido, no hubo recurrencia de en el 73% de las ocasiones, por lo que tal vez haya que replantear el dogma previo [82]. Se recomienda:

- En los pacientes de bajo riesgo (sin comorbilidad, o con menos de cinco lesiones hepáticas), con lesiones potencialmente resecables, la resección de las metástasis y un tratamiento quimioterápico adyuvante.

- En los pacientes de alto riesgo, con metástasis en el límite de la resecabilidad, o cuando exista una enfermedad irresecable, se recomienda el tratamiento neoadyuvante.

No se ha determinado cuál es el tratamiento óptimo, las guías clínicas de “National Comprehensive Cancer Network” (NCCN), recomiendan cualquiera de las siguientes líneas de tratamiento:

- FOLFOX o CAPOX o FOLFIRI con o sin bevacizumab.
- FOLFOX o CAPOX o FOLFIRI con cetuximab (sólo con la forma nativa de K-ras).
- FOLFOXIRI.

Independientemente de la línea de tratamiento elegida, la duración de la quimioterapia neoadyuvante debería ser limitada y habría que valorar la respuesta radiológica al tratamiento cada 6 semanas para indicar la cirugía en el momento en el que las metástasis puedan ser claramente resecadas. La hepatectomía debería de retrasarse un mínimo de cuatro semanas tras la administración de la quimioterapia, y entre 6-8 semanas si el bevacizumab forma parte del tratamiento[83].

1.10.1.2. Embolización portal pre-operatoria

Existen tres niveles de riesgo de insuficiencia hepática post-operatoria en función del volumen hepático remanente: (1) bajo riesgo cuando es superior al 40%, (2) riesgo medio cuando se sitúa entre el 40 y el 25%, y (3) alto riesgo cuando el remanente funcional del parénquima hepático es inferior al 25%. La embolización portal preoperatoria del hígado a resecar induce una hipertrofia compensadora del futuro remanente hepático, permitiendo una resección mayor del tejido hepático con un margen libre de tumor mucho más claro, disminuyendo el riesgo de insuficiencia hepática post-operatoria. La embolización portal se recomienda de forma rutinaria en los pacientes en los que se estime un volumen remanente de tejido hepático inferior al 30%, o al 40% en los casos en los que se haya administrado tratamiento quimioterápico neoadyuvante. Tras la embolización portal, la resección hepática se realiza una vez alcanzado el grado mayor de

hipertrofia del hígado remanente calculado mediante un estudio volumétrico realizado por TC, (a las 4-6 semanas de dicha embolización). Se ha estimado que gracias a la embolización preoperatoria son posibles un 20% más de hepatectomías ampliadas en tumores inicialmente irresecables. De igual forma se acepta su utilización en hepatectomías mayores para aumentar la seguridad del procedimiento[84].

1.10.1.3. Tratamiento local para la enfermedad metastásica

La radiofrecuencia y la crioterapia se pueden aplicar durante una laparotomía, una cirugía laparoscópica, o bien de forma percutánea. Tanto la crioterapia como la radiofrecuencia tienen un porcentaje de complicaciones similar (7-9%). Sin embargo, la tasa de recurrencia local tumoral es inferior con la radiofrecuencia (18% versus 53%). La limitación principal de ambas técnicas es la proximidad del tumor a estructuras vasculares o biliares. Por el momento no existen estudios controlados y aleatorizados que hayan demostrado la superioridad de un tratamiento sobre el otro, con una supervivencia decepcionante a los tres años (20-40%), y prácticamente inexistente a los cinco años. Un tamaño tumoral superior a los tres centímetros limita la aplicación de estos tratamientos locales, aunque se reposicione la aguja y se realicen varias aplicaciones en un intento de destruir completamente la lesión. Una localización de la metástasis próxima al hilio hepático impide su aplicación por el riesgo de lesionar la vía biliar y provocar una estenosis o una fístula biliar. Cuando la radiofrecuencia se emplea de forma incorrecta se pueden producir quemaduras eléctricas (perforaciones diafragmáticas y del colon), derrame pleural, sangrado, hematomas subcapsulares, biliomas, abscesos, fístulas arterio-portales y trombosis portal (lesión irreversible y potencialmente mortal)

La radiofrecuencia sola o en combinación con la cirugía proporciona una supervivencia superior a la no resección quirúrgica (40% versus 10% de supervivencia a los 3 años), pero significativamente inferior a la supervivencia que proporciona la resección quirúrgica. No obstante, puede tener su papel en pacientes en los que se ha hecho una resección macroscópica incompleta de las metástasis, cuando existan pequeñas lesiones que son quirúrgicamente

inaccesibles, en la recidiva no resecable tras la hepatectomía, y en pacientes no candidatos a la cirugía debido a su comorbilidad asociada[85].

Tras la embolización portal, se produce un gran crecimiento de las metástasis del hígado no embolizado, por ello se suelen emplear conjuntamente técnicas destructivas locales, como es la radiofrecuencia para impedir su rápida progresión[86].

1.10.1.4. Hepatectomía en dos tiempos

La hepatectomía en dos tiempos es una estrategia resectiva secuencial con intención curativa que se aplica en el tratamiento de metástasis multinodulares, bilobares, en las que sería imposible la resección con un procedimiento único. De esta forma, durante la primera hepatectomía se pretende eliminar el mayor número posible de lesiones metastásicas, con el objetivo de convertir una segunda hepatectomía en potencialmente curativa. Tras la primera resección el remanente hepático se hipertrofia y la quimioterapia sistémica limita el crecimiento y la diseminación de los posibles depósitos tumorales residuales. Esta quimioterapia post-operatoria, que suele emplear el mismo régimen de tratamiento que el neoadyuvante, se inicia a las tres semanas de la primera resección y no interfiere con la regeneración hepática precoz. Sólo se llevará a cabo la segunda hepatectomía si ésta es potencialmente curativa, es decir, que no se haya producido una progresión tumoral significativa y que exista una adecuada hipertrofia del parénquima que disminuya el riesgo de insuficiencia hepática post-operatoria. La multinodularidad representa la causa más frecuente de incapacidad para la resección de metástasis por un problema técnico[87].

Esquemáticamente se pueden producir siete situaciones, a las que aplicamos diferentes soluciones quirúrgicas en función del número, tamaño y localización de las lesiones (Figura 2):

1. En metástasis metacrónicas resecables que precise resección de < 60% parénquima: Resección.
2. En sincrónicas abordables por la misma laparotomía y la resección hepática sea menor: Resección en un tiempo.

3. En sincrónicas no abordables en la misma laparotomía y / o resección mayor: Cirugía primario, quimioterapia y hepatectomía posterior.

4. Las metástasis multinodulares unilobares que precisan para su resección completa de una hepatectomía ampliada con un volumen de resección de parénquima funcional superior al 60-70%, se benefician de una embolización portal pre-operatoria. La hipertrofia inducida en el futuro remanente hepático permite realizar una resección curativa con un mínimo riesgo de insuficiencia hepática post-operatoria.

5. Las metástasis multinodulares bilobares cuya resección dejase tres o menos nódulos de menos de tres centímetros en el hígado remanente, se benefician de una resección hepática asociada a radiofrecuencia de los nódulos no resecados.

6. Las metástasis multinodulares bilobares cuya resección dejase más de tres nódulos de más de tres centímetros en el hígado remanente se beneficiarían de una hepatectomía en dos tiempos.

7. En R0 con factores de muy mal pronóstico: ¿catéter intra-arterial para quimioterapia postoperatoria?, ¿Quimioterapia postoperatoria agresiva?

En los últimos años se ha producido la expansión de los criterios de resecabilidad de los pacientes con metástasis hepáticas de origen colo-rectal. En el fondo de este cambio está el desarrollo y aplicación de la moderna quimioterapia que han elevado la respuesta de las lesiones al tratamiento, permitiendo que pacientes inicialmente considerados irresecables se puedan beneficiar de un tratamiento con intención curativa. El crecimiento tumoral sobre las venas suprahepáticas o sobre la vena cava constituye la segunda causa de incapacidad para la resección por motivos técnicos, debido al alto riesgo de hemorragia intraoperatoria. Los cirujanos disponemos de diferentes recursos para enfrentarnos a este tipo de resecciones de riesgo como son: el clampaje intermitente de la tríada portal (maniobra de Pringle), la exclusión vascular hepática con o sin preservación del flujo de la vena cava, el bypass veno-venoso extracorpóreo, la reconstrucción vascular de la cava o de las venas hepáticas, la perfusión hipotérmica del hígado con una resección in situ o ex vivo y la técnica ALPPS (Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy). La

elección del tipo de control vascular depende de su complejidad y de la duración estimada de la hepatectomía, con el objetivo de minimizar la hemorragia y evitar un prolongado tiempo de isquemia. La utilización de éstas y otras técnicas desarrolladas originalmente para el trasplante de hígado, o los injertos de donante vivo, dentro del arsenal de la cirugía de resección del cáncer es lo que se conoce como cirugía hepática extrema, con una mortalidad en la mayoría de las series próxima al 30%, y una supervivencia a los cinco años inferior al 10% [88].

1.10.2 Tratamiento de la recidiva

A pesar de un tratamiento quirúrgico y quimioterápico correcto con intención curativa, aproximadamente un 70% de los pacientes presenta recidiva de la enfermedad y, un 28 % localizada exclusivamente en el hígado tras la resección hepática de las metástasis de origen colo-rectal. En estos casos la re-hepatectomía tiene la misma indicación que en la primera resección hepática, proporcionando un aumento significativo de la supervivencia, con una morbi-mortalidad similar. Adam et al en su serie del Paul Brousse han obtenido una supervivencia a cinco años tras la tercera hepatectomía del 30%, ello indica que toda recurrencia hepática debe resecarse siempre que exista la posibilidad técnica. En esta serie el intervalo entre la resección inicial y el diagnóstico de recurrencia fue un predictor muy importante de supervivencia, lo que significa que cuando el intervalo libre de enfermedad es corto el tumor es mucho más agresivo y tiene un mayor potencial de diseminación y de recurrencia [89].

En un 20% de los casos existe recurrencia localizada en el pulmón, estando indicada su resección debido a los buenos resultados obtenidos en cuanto a supervivencia a largo plazo.

La enfermedad recurrente a nivel del lecho de resección del tumor primario o a nivel de los ganglios linfáticos mesentéricos se produce en menos del 10 % de los pacientes, y está indicada igualmente su resección [90].

1.10.3 Tratamiento quimioterápico tras la resección

No está claro si tras una resección R0 es preciso administrar quimioterapia adyuvante o no. Lorenz, en 1998 no demostró beneficio

con quimioterapia intra-arterial con 5-Fluorouracilo en un estudio amplio de varios centros[91]. Sin embargo, Kemeny, en 1999 y 2002 si demostró que la terapia intra-arterial más la intravenosa es eficaz porque retrasa la recurrencia intrahepática llegando incluso a prevenirla[92]. Nuevos estudios se están llevando a cabo con irinotecán y oxaliplatino con resultados prometedores, también se está ensayando el uso de la quimio-inmunoterapia, quimio-radioterapia, vasopresores, inhibidores de la angiogénesis, radionúclidos e isótopos como el ⁹⁰Itrium.

Hay una situación que todos hemos vivido amargamente y es la recurrencia agresiva y precoz de la enfermedad metastásica generalmente en pacientes con mucha carga tumoral. Parece que en ocasiones la cirugía “despierta” a pequeños focos inactivos o reactiva a la enfermedad y por este motivo quizás en determinados pacientes con factores de riesgo sería bueno una actitud más agresiva como quimioterapia postoperatoria con fármacos más potentes o intra-arterial.

Las guías clínicas del NCCN recomiendan la administración de quimioterapia sistémica durante seis meses tras la resección de metástasis hepáticas de cáncer colo-rectal, siendo posibles los siguientes esquemas de tratamiento:

- FOLFOX o CAPOX o FOLFIRI con o sin bevacizumab.
- FOLFOX o CAPOX o FOLFIRI más cetuximab (sólo si k-ras nativo).

1.10.4 Seguimiento tras la resección

Las guías clínicas de la NCCN recomiendan:

- La determinación del CEA cada tres meses durante dos años, y a continuación cada seis meses durante tres años.
- La realización de una TC tóraco-abdomino-pélvico cada tres meses durante dos años, y cada 6 meses durante los tres años siguientes.
- Una colonoscopia al año, a los tres años, y a continuación a los cinco años, si existiese un adenoma y este fuese completamente resecado habría que repetir la colonoscopia a los tres años o a los cinco años, según las características de los pólipos resecados.

1.11 ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL CÁNCER COLO-RECTAL

La cirugía es el tratamiento más importante del cáncer colo-rectal, y el estudio anatomo-patológico de la pieza quirúrgica es la principal herramienta para determinar el pronóstico. Aunque los parámetros que determinan el estadio patológico son los predictores de supervivencia más importantes, existen otros factores clínicos, moleculares e histológicos que influyen en el pronóstico independientemente del estadio.

Se discutirá la anatomía patológica del cáncer colo-rectal y los factores pronósticos más importantes, considerando la evidencia científica de cada uno de ellos.

La mayoría de los tumores de colon y recto son carcinomas, el 90% de ellos son adenocarcinomas, pero también existen otros tipos histológicos: neoplasias neuroendocrinas, hamartomas, tumores mesenquimales, linfomas; teniendo algunos de ellos implicaciones pronósticas. Por ejemplo, el subtipo de adenocarcinoma en células en anillo de sello tiene mal pronóstico, mientras que el subtipo medular, que asocia con frecuencia a un déficit de proteínas reparadoras, tiene un pronóstico más favorable.

Aunque todos los cánceres colo-rectales se originan en adenomas, engloban diferentes patrones morfológicos con una invasión y expansión diferente. La mayor parte de los carcinomas colo-rectales son adenocarcinomas que se suelen clasificar según su grado histológico. Aunque existen en la literatura diferentes esquemas para evaluar el grado histológico del carcinoma colo-rectal, ninguno es aceptado y empleado de forma universal. El grado histológico de diferenciación suele tener en cuenta el patrón de crecimiento y la formación de estructuras glandulares[93].

Las formaciones glandulares están presentes en mayor o menor grado en los tumores bien y moderadamente diferenciados, respectivamente. Sin embargo, los adenocarcinomas pobremente diferenciados o indiferenciados (tumores de alto grado) no forman estructuras glandulares bien definidas, sino nidos y cordones sólidos de células neoplásicas, a menudo con una atipia marcada, pleomorfismo y con un alto índice mitótico.

La mayoría de los tumores produce mucina que puede permanecer en el interior de las células o ser secretada. La mucina extracelular diseca las paredes tumorales y ello aumenta su extensión local. Los tumores que producen cantidades importantes de mucina extracelular (la mucina representa más del 50% de la masa tumoral) se clasifican como carcinomas mucinosos. Este tipo histológico representa aproximadamente el 11-17% de todos los carcinomas colo-rectales. Los carcinomas mucinosos tienen predilección por el lado derecho del colon, y tienen una peor respuesta a la quimiorradioterapia neoadyuvante, y a la quimioterapia adyuvante[94].

En algunos carcinomas no formadores de glándulas, la mucina intracelular desplaza al núcleo celular. Cuando más del 50% del tumor está constituido por este tipo de células, se clasifica como un carcinoma de células en “anillo de sello”. Ello sucede en el 1 % de todos los carcinomas colo-rectales, constituyendo una variante muy agresiva, con tendencia a una diseminación intratumoral muy extensa y a una carcinomatosis peritoneal. Se ha observado que la localización del tumor y la inestabilidad de microsatélites influyen en el pronóstico de los pacientes. De hecho, se ha observado que en el grupo de los pacientes con tumores localizados en el colon proximal o con inestabilidad de microsatélites un tumor mucinoso no empeora el pronóstico[95].

Algunos tumores, sobre todo aquellos localizados en el colon distal, contienen áreas de diferenciación escamosa y se denominan carcinomas adenoescamosos. Son tumores raros, que representan un 0,05-0,2% de todos los tumores colo-rectales, y se relacionan con una mortalidad global y asociada al cáncer colo-rectal mayor que la de los adenocarcinomas convencionales[96].

Aproximadamente el 10% de los tumores colorrectales, sobre todo aquellos que son pobremente diferenciados, contienen focos de diferenciación neuroendocrina. Los tumores que no forman glándulas y tienen una extensa diferenciación neuroendocrina, se clasifican como carcinomas de células pequeñas, y tienen un mal pronóstico. Sin embargo, no está clara la importancia de los focos de diferenciación neuroendocrina dentro de otros tipos histológicos mejor diferenciados.

El subtipo de los carcinomas medulares, es una variante histológica no formadora de glándulas, compuesta por células eosinofílicas alargadas, poligonales que crecen formando nidos y masas sincitiales, , y tienen un importante infiltrado asociado de linfocitos pequeños. La importancia de identificarlo y de diferenciarlo del carcinoma indiferenciado es su asociación con la inestabilidad de microsatélites y con el síndrome del cáncer de colon hereditario no asociado a poliposis, la señal de identidad biológica de dichos tumores es el alto grado de inestabilidad de microsatélites. Los tumores colónicos con inestabilidad de microsatélites se localizan con más frecuencia en el colon derecho, con morfología de células en “anillo de sello” o, de tipo histológico medular; y suelen tener un importante infiltrado inflamatorio similar al de la enfermedad de Crohn[97].

El carcinoma mucinoso primario epitelial de ovario puede tener una forma de presentación similar, por lo que se debe tener en cuenta para el diagnóstico diferencial. El estudio inmunohistoquímico ayuda en su diagnóstico: los carcinomas colo-rectales y apendiculares son citokeratina 20 positivo y citokeratina 7 negativo, a diferencia de los tumores de ovario que tienen características inmunohistoquímicas diferentes[98].

1.12 FACTORES PRONÓSTICOS

El factor pronóstico más importante tras la resección del cáncer colo-rectal es el estadio patológico. La supervivencia a cinco años de los pacientes con cáncer colo-rectal se estratifica en función del estadio tumoral empleando la clasificación del 2017 de la AJCC. Esta clasificación emplea únicamente elementos de la extensión anatómica del tumor, determinados por métodos clínicos y patológicos. En los últimos años se han identificado varios factores pronósticos independientes que pueden predecir supervivencia y ayudan a tomar decisiones terapéuticas. Los más empleados y con una utilidad demostrada en la literatura son la existencia de enfermedad residual, el tipo y el grado histológico, los niveles de CEA, la invasión venosa extramural, y la invasión vascular submucosa en los pólipos malignos. En 1999, la conferencia de consenso del “Colegio Americano de Patólogos” valoró el papel de los factores biológicos, genéticos,

moleculares, y otros factores tisulares en el cáncer colo-rectal. Los factores pronósticos se agruparon en categorías en función de su valor pronóstico:

- Categoría I: factores pronósticos con un valor demostrado en múltiples estudios y que se emplean en el manejo de los pacientes.
- Categoría IIA: extensos estudios clínicos y biológicos han demostrado su valor pronóstico para la supervivencia y para predecir la respuesta al tratamiento. Estos factores tienen una importancia suficiente como para ser incluidos en estudios patológicos, sin embargo, su importancia clínica no ha sido todavía validada.
- Categoría IIB: factores que en diferentes estudios parecen tener una importancia prometedora, pero que no se pueden incluir en ninguna de las anteriores categorías.
- Categoría III: no existen suficientes estudios para determinar su valor pronóstico.
- Categoría IV: factores que parece que no tienen importancia pronóstica.

1.12.1 Factores pronósticos de categoría I

1.12.1.1 Extensión local del tumor

La extensión local de la enfermedad (por ejemplo, la profundidad de la penetración tumoral) influye de forma independiente en la supervivencia. Sin embargo, la evaluación de la categoría T es variable, sobre todo la presencia o ausencia de infiltración de la serosa. La invasión tumoral de la serosa es un factor patológico adverso. Sin embargo, existe una importante confusión en la definición de infiltración de la serosa. La determinación histológica de la penetración serosa es difícil, y una interpretación muy conservadora puede infraestadificar al tumor. Por ejemplo, un estudio exhaustivo acerca de la invasión de la serosa revela la existencia de células malignas en más de un 26% de los pacientes clasificados dentro de un estadio pT3. Los hallazgos histopatológicos en relación a la invasión peritoneal son heterogéneos y no existen unas guías estandarizadas para su interpretación diagnóstica. La invasión local peritoneal puede definirse por los siguientes hechos:

- Reacción inflamatoria mesotelial y/o hiperplásica con el tumor muy próximo a la superficie serosa.
- El tumor presenta una superficie serosa con una reacción inflamatoria, hiperplasia mesotelial, y/o erosión o ulceración.
- Células tumorales libres en la superficie serosa dentro del peritoneo con ulceración del peritoneo visceral.

Los tres tipos de invasión peritoneal local se pueden emplear para definir la infiltración serosa (tumores T4a), y todos tienen un impacto pronóstico desfavorable. La presencia de células libres en la superficie serosa es más frecuente que las otras dos formas de invasión peritoneal para predecir la recurrencia intraperitoneal y/o la persistencia tumoral. En los casos en los que no esté clara la infiltración peritoneal, se debe asignar una categoría inferior (pT3)[19].

1.12.1.2 Ganglios linfáticos

La infiltración de los ganglios linfáticos y la existencia de metástasis a distancia son los factores pronósticos tras la resección del cáncer colo-rectal más importantes. Tanto en el cáncer de colon como en el cáncer de recto, la existencia de enfermedad ganglionar metastásica se relaciona con la profundidad de la invasión transmural del tumor primario y con su grado histológico. El número de ganglios linfáticos invadidos es un importante factor pronóstico. Por ello, la clasificación TNM del 2017 clasifica la enfermedad ganglionar en función del número de ganglios invadidos.

Además del número total de ganglios invadidos, el número total de ganglios linfáticos existentes en la pieza quirúrgica influye en el pronóstico tanto en los estadíos II (ganglios negativos) como en el estadio III (ganglios positivos). Se ha considerado en diferentes estudios el empleo de una ratio entre los ganglios invadidos y los ganglios estudiados. Se desconoce la razón por la que el número total de ganglios extirpados en la pieza quirúrgica influye en la supervivencia de los pacientes. Probablemente la explicación más razonable sea que cuanto mayor sea el número de ganglios extirpados mejor será la estadificación del tumor, mejor habrá sido la resección quirúrgica y la resección del pedículo vascular. Por otra parte, las diferencias existentes en cuanto al número de ganglios resecados entre los pacientes, refleja

la existencia de una variabilidad biológica individual. La existencia de un mayor número de ganglios linfáticos se debe a que el sistema inmune ha reconocido al tumor, por ello, la supervivencia será mayor independientemente del número de ganglios linfáticos metastásicos. Las guías clínicas recomiendan para estadiar a un paciente la necesidad de estudiar 12 ganglios linfáticos, sin embargo, este número se ha calculado empíricamente a partir de estudios observacionales y no se ha ajustado a variables como son la T, el grado tumoral y el empleo de quimio-radioterapia preoperatoria para el cáncer de recto. La relevancia del umbral de 12 ganglios, se ha cuestionado en los pacientes con cáncer de recto que han recibido tratamiento neoadyuvante previo a la resección quirúrgica. La resección de 12 ganglios o más no es posible en la mayor parte de los pacientes tras haber recibido tratamiento neoadyuvante, pero ello no se relaciona con una supervivencia menor[99].

1.12.1.3 Ganglios mesentéricos

La clasificación TNM del 2017 emplea el término de depósitos satélites tumorales para describir nódulos tumorales de cualquier tamaño dentro de la grasa pericólica o peritumoral en el mesenterio adyacente. Se consideran equivalentes a las metástasis ganglionares incluso en ausencia de arquitectura ganglionar, y se estadifica como enfermedad N1c en ausencia de otras metástasis ganglionares. La presencia de dichos depósitos tumorales es un importante factor pronóstico adverso. Cuando se consideran los ganglios mesentéricos independientemente del tumor primario y de los ganglios linfáticos, su presencia empeora el pronóstico desde los estadios T/N0 a los estadios III, mientras que en los estadios T/N+ el pronóstico es similar a los estadios IIIC e inferior los estadios IV[100, 101].

1.12.1.4 Micrometástasis ganglionares

Son células tumorales aisladas o pequeños racimos de células de menos de 0.2 mm en su dimensión mayor, observadas en secciones histológicas de hematoxilina-eosina o mediante métodos inmunohistoquímicos, o cualquier tumor diagnosticado a través de métodos moleculares no histológicos como la reacción en cadena de la

polimerasa (RT-PCR) para la detección del RNA tumoral específico. En el momento actual, en la clasificación TNM del 2017, las micrometástasis ganglionares diagnosticadas mediante inmunohistoquímica se codifican como pN0 (i+), y el tumor que se diagnostica únicamente mediante técnicas moleculares como RT-PCR se codifica como PN0 (mol+).

1.12.1.5 Invasión vascular

La invasión tumoral en vénulas o en pequeños linfáticos post-capilares, representan un importante factor pronóstico adverso. En todos los tumores y pólipos malignos es muy importante diagnosticar la existencia de invasión venosa, angiolinfática y su localización específica intramural o extramural. Para su diagnóstico es necesaria la identificación de células tumorales dentro del endotelio o rodeando la lámina elástica. Se recomienda una sección de hematoxilina-eosina de cada bloque tumoral para investigar la existencia de invasión vascular, no existen datos que recomienden estudios adicionales, o el empleo de técnicas inmunohistoquímicas[102].

1.12.1.6 Tumor residual

La presencia de tumor residual tras el tratamiento quirúrgico es un importante factor pronóstico adverso. En un estudio con 152 pacientes con tumores de colon con un estadio T4, la supervivencia libre de enfermedad a 10 años fue significativamente inferior para los 42 pacientes con una resección incompleta del tumor al compararlo con aquellos tumores T4N0 o T4 con ganglios positivos completamente resecados (19 vs 88 y 58%, respectivamente[103]). La ausencia de una resección completa está muy relacionada con el margen de resección circunferencial. R indica la existencia de enfermedad residual tras la cirugía, y se debe emplear únicamente en el contexto de enfermedad M0. La enfermedad residual se codifica en la clasificación TNM como (R0, R1, y R2), y se define de la siguiente forma.

- R0: resección completa del tumor con márgenes histológicamente libres.
- R1: resección incompleta del tumor. Tumor residual microscópico.

- R2: resección incompleta del tumor. Tumor residual macroscópico (tumor primario, ganglios linfáticos, margen macroscópico invadido).

1.12.1.7 Niveles séricos de CEA

Los niveles séricos del marcador tumoral antígeno carcinoembrionario (CEA), se deben cuantificar de forma rutinaria preoperatoriamente en todos los pacientes con un cáncer colo-rectal que van a ser sometidos a una resección con intención curativa por dos motivos:

- Los niveles elevados de CEA preoperatoriamente que no se normalizan tras una resección quirúrgica implican la presencia de enfermedad persistente y es necesaria una re-evaluación del paciente.
- El valor de CEA preoperatorio tiene importancia pronóstica. Un CEA mayor o igual a 5 ng/mL tiene un impacto adverso en la supervivencia independientemente del estadio tumoral. En una serie de 17.910 pacientes diagnosticados de cáncer de colon y recogidos en la base de datos SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) en 2004, con un tiempo medio de seguimiento de 27 meses, se observó que un nivel preoperatorio elevado de CEA se relaciona con un incremento significativo del riesgo de mortalidad total. El nivel de CEA es un factor pronóstico independiente en todos los estadios, y dentro de cada estadio el subgrupo de pacientes con un nivel de CEA preoperatorio elevado tiene una supervivencia peor, similar a la de los pacientes con un estadio tumoral superior. De hecho, los pacientes con ausencia de enfermedad ganglionar y con un nivel de CEA preoperatorio elevado tienen un peor pronóstico que aquellos pacientes con ganglios positivos y un nivel preoperatorio de CEA normal[104].

Estos datos sugieren que el valor de CEA preoperatorio se debería incluir en la clasificación TNM, y se debería tener en cuenta para tomar decisiones en cuanto a la administración de tratamiento adyuvante tras la resección quirúrgica. Los pacientes con ganglios negativos, pero con niveles de CEA preoperatorio elevados, tienen un elevado riesgo de recurrencia tras la cirugía, hecho a tener en cuenta para decidir el tratamiento con quimioterapia adyuvante, sobre todo si existen otros factores de riesgo (obstrucción, perforación). A pesar de ello, la

sociedad americana de oncología médica (ASCO), considera que todavía no existen datos suficientes para recomendar la quimioterapia adyuvante en función de los valores de CEA[105, 106].

1.12.2 Factores pronósticos de categoría IIA

Estos factores han sido considerados por el “Colegio Americano de Patólogos” con una importancia suficiente para incluirse en el contexto de un estudio, pero todavía no tienen el valor suficiente como para ser decisivos en la práctica clínica diaria.

1.12.2.1 El grado tumoral

El grado histológico refleja el grado de diferenciación tumoral, es un factor pronóstico independiente. Sin embargo, el grado histológico es subjetivo, con una variabilidad inter-observador muy significativa, y no existe un sistema único aceptado para su valoración. La interpretación del grado tumoral puede basarse en el estudio de la totalidad del tumor o de una única zona tumoral, valorando únicamente la formación glandular o la combinación de la formación glandular y otros hallazgos citológicos.

En la mayoría de los estudios, el valor pronóstico del grado tumoral se estratifica en dos grupos: bajo grado (bien y moderadamente diferenciado) vs alto grado (pobrementemente diferenciado o indiferenciado). La sociedad americana de patología recomienda la adopción de estos dos grados tumorales, considerando únicamente la formación glandular como único hecho para valorar el grado tumoral (<50% de formación glandular representa un alto grado de enfermedad), con la intención de reducir la variabilidad inter-observador preservando el poder pronóstico del grado tumoral[107].

1.12.2.2 Margen circunferencial

El margen de resección circunferencial corresponde a la superficie de disección quirúrgica sin peritoneo de la pieza quirúrgica, es decir, la zona de colon y recto que no está cubierto (o parcialmente cubierto, como en el colon ascendente, descendente y rectosigma) por una capa serosa de células mesoteliales y debe ser liberado del retroperitoneo. El recto medio e inferior es extraperitoneal en su

totalidad, y la superficie externa de la pieza quirúrgica se considera el margen de resección circunferencial, a diferencia de los segmentos del colon que están completamente rodeados por una superficie peritoneal (ciego, transverso y colon sigmoide), y el único margen quirúrgico es el margen mesentérico a menos que el cáncer esté adherido o infiltre un órgano o estructura adyacente. En el cáncer de recto, la calidad de la técnica quirúrgica y el estado del margen de resección circunferencial es uno de los factores predictivos más importante para la recurrencia local, a distancia y para la supervivencia. La excisión total del mesorrecto con un margen libre de enfermedad disminuye la probabilidad de recidiva local. El objetivo consiste en extirpar todo el mesorrecto intacto (con el mesenterio y todos los ganglios regionales) considerándose como margen circunferencial la fascia mesorrectal.

En el estudio de la pieza quirúrgica, la distancia entre el borde del tumor y el margen de resección circunferencial debe medirse en milímetros. Todavía no existe consenso para considerar un margen de resección circunferencial positivo, pero en general, se considera positivo cuando la distancia entre el punto más profundo de penetración del tumor y el margen de resección circunferencial es inferior a 1 milímetro.

Existen muchos estudios que definen la relación entre el estado del margen de resección circunferencial y la supervivencia, es razonable pensar que existe un mayor riesgo de recurrencia local del tumor en los segmentos sin peritoneo como es el caso del cáncer de recto. Así, en los pacientes que no han recibido radioterapia preoperatoria, un margen de resección circunferencial positivo implica la administración de radioterapia post-operatoria, independientemente de la extensión local del tumor[108, 109].

1.12.2.3 La regresión del tumor tras el tratamiento neoadyuvante

El sistema de estadiaje TNM se diseñó inicialmente para los tumores que no habían sido previamente tratados. El tratamiento neoadyuvante se emplea cada vez más en el cáncer de recto, porque tiene una menor toxicidad a largo plazo y permite una mayor

preservación de la función de los esfínteres que el tratamiento quirúrgico y el tratamiento quimioterápico adyuvante.

El estadiaje patológico TNM de la pieza quirúrgica tras haber recibido tratamiento neoadyuvante se clasifica de una forma diferente (ypTNM). Además, el grado de regresión tumoral tras el tratamiento preoperatorio es un importante factor pronóstico[110].

1.12.3 Factores de categoría IIB

Son factores pronósticos prometedores en múltiples estudios, pero todavía no existen datos suficientes para su inclusión en la categoría I o IIA.

1.12.3.1 Tipo histológico

En líneas generales, el tipo histológico en el cáncer colo-rectal no es un factor pronóstico independiente con la excepción del adenocarcinoma en anillo de sello, el pobremente diferenciado, o indiferenciado, y probablemente los tumores mucinosos de recto (pero no del colon).

1.12.3.2 Déficit de proteínas reparadoras del DNA y la existencia de infiltrado linfocitario tumoral

Las mutaciones en alguna de las proteínas reparadoras del DNA se pueden encontrar en el cáncer de colon hereditario no asociado a poliposis y en el 15-20% de los cánceres de colon esporádicos.

La característica genética en los tumores con déficit de las proteínas reparadoras del DNA es el alto número de errores de replicación (RER+) y los altos niveles de inestabilidad de microsatélites (MSI-H), que se define como la inestabilidad en más del 30% de los microsatélites. El término MSI se refiere a la expansión o contracción de secuencias cortas de DNA repetidas provocadas por la inserción o borrado de unidades repetidas.

Aunque esos tumores suelen ser a menudo pobremente diferenciados, una alta inestabilidad de microsatélites se asocia a una supervivencia mayor que una baja inestabilidad de microsatélites, tanto en el cáncer de colon hereditario asociado a poliposis como en los casos de cánceres esporádicos. Se desconoce la base biológica de este hecho.

La presencia de MSI-H puede tener una potencial relevancia en la toma de decisiones. Además del mejor pronóstico que implica la existencia de déficit de las proteínas reparadoras, existen estudios que sugieren que las líneas de tratamiento quimioterápico basadas en 5FU tiene un menor beneficio en los pacientes con una elevada inestabilidad de microsatélites[111].

Los tumores de colon con MSI-H tienen una serie de características histológicas distintivas: son más frecuentes en el cáncer de colon derecho, suelen ser tumores mucinosos, con un patrón histológico de células en anillo de sello o medular, pobremente diferenciados, y con un infiltrado inflamatorio que simula a una enfermedad de Crohn.

Estos hallazgos histológicos han sido empleados para el diagnóstico del cáncer de colon hereditario no asociado a poliposis, previo a su estudio genético. Aunque el hecho de tener más de la mitad de dichos criterios histológicos no garantiza un test genético positivo.

La presencia de un infiltrado inflamatorio dentro del estroma tumoral se considera en la mayor parte de los estudios como un factor pronóstico favorable debido a su asociación con la inestabilidad de microsatélites. Los tumores que contienen un gran número de células linfoides tienen con mucha frecuencia mutaciones en las proteínas reparadoras del DNA y una elevada inestabilidad de microsatélites. Los carcinomas medulares, son el único subtipo histológico de cáncer colorectal que siempre tienen una elevada inestabilidad de microsatélites; tienen además una fuerte asociación con el cáncer de colon hereditario no asociado a poliposis, y se caracterizan además por la presencia de un infiltrado linfocitario intratumoral[112].

Existen varios estudios en los que se ha observado que tanto la MSI-H como el infiltrado linfocítico intratumoral son factores pronósticos independientes. Son necesarios más estudios que diferencien entre la infiltración linfocítica intratumoral y la peritumoral y que, confirmen su importancia como factores pronósticos antes de ser incluidos como indicadores pronósticos en la práctica clínica diaria[113].

1.12.3.3 Delección 18q

La pérdida alélica de una región en brazo largo del cromosoma 18 es un hecho frecuente en el cáncer colo-rectal. Esta región incluye tres dominios (DCC, SMAD4, y SMAD2) con mucha importancia en la génesis de los tumores intestinales. De todo ellos el que ha sido estudiado en mayor profundidad es el DCC (Deleted in Colon Cancer). Existe evidencia de la relación entre la pérdida de 18Q y la historia natural del cáncer colo-rectal. La pérdida de heterocigocidad (LOH) del 18q y la ausencia de expresión de la proteína que codifica, se relacionan con un peor pronóstico tanto en los pacientes con ganglios positivos como negativos en el cáncer colo-rectal. En un estudio se ha observado que los pacientes con cáncer de colon estadio II y 18q LOH presentaron una supervivencia similar a los pacientes con un estadio III, y los pacientes en un mismo estadio, pero sin 18q LOH tenían una supervivencia similar a los pacientes en un estadio I. De todas formas, existen todavía muchas dudas en relación a cómo la pérdida de 18q puede ser un factor predictor independiente de supervivencia. Por ejemplo, 18q LOH se relaciona inversamente con la inestabilidad de microsatélites, que es un factor pronóstico favorable. De hecho, existen datos contradictorios acerca de la implicación pronóstica de 18q LOH independientemente del estado de la inestabilidad de microsatélites (MSI). En un estudio entre pacientes con cáncer de colon estadio III y estabilidad de microsatélites, la pérdida de 18q se relacionó con un aumento de 2,75 veces del riesgo de muerte en los pacientes con cáncer colo-rectal. Debido al número reducido de estudios que relacionan es estado de 18q con la supervivencia de los pacientes y además a que la mayor parte de ellos son retrospectivos, la “Sociedad Americana de Oncología cree que su utilización como factor pronóstico es todavía inapropiado. No obstante, la pérdida del dominio DCC es el marcador pronóstico molecular más prometedor, pero son necesarios más estudios para determinar su utilidad clínica.

La estratificación molecular mediante factores como la pérdida de DCC, podría ser especialmente útil en los pacientes con cáncer de colon y ganglios negativos, en los que la quimioterapia no ha demostrado un beneficio en la supervivencia. Si los pacientes con ganglios negativos y pérdida de DCC representan un subgrupo con un pronóstico peor,

entonces podrían beneficiarse del tratamiento, pero son necesarios muchos más estudios para validar esta teoría[114].

1.12.3.4 El margen de invasión tumoral

En el cáncer colo-rectal la configuración del tumor en el frente de invasión, es decir en el borde tumoral ha demostrado tener una importancia pronóstica independientemente del estadio, y en el desarrollo de metástasis hepáticas. Específicamente, un patrón de crecimiento irregular e infiltrativo (“tumor budding”) ha demostrado ser un factor pronóstico adverso independiente en diferentes estudios, a diferencia de un patrón de crecimiento compresivo o expansivo. Las características de un borde tumoral infiltrativo son las siguientes:

- Incapacidad para definir el límite de la invasión tumoral y de poder distinguir el tejido huésped del tejido maligno.

- En el examen microscópico del borde tumoral se observa la disección del tumor a través de todo el grosor de la muscular propia sin respuesta estromal y una disección del tejido adiposo mesentérico por pequeñas glándulas, o racimos o cordones de células con invasión perineural.

“Tumor budding” o la presencia de brotes tumorales, es otro hallazgo específico del borde tumoral y que se define por la presencia de racimos de células tumorales en el frente de invasión tumoral. Existen datos que sugieren que este hecho tiene un valor pronóstico mayor que el grado tumoral. Se ha observado en algunos estudios que puede llegar a predecir la existencia de metástasis ganglionares linfáticas en los pacientes sometidos a una amputación abdomino-perineales en con tumores T1 y T2, lo que sugiere que puede ser útil como indicador de riesgo de recurrencia tras una resección local de un tumor rectal (excisión trans-anal)[115].

1.12.3.5 Invasión perineural

Existen estudios en los que la invasión perineural se relaciona con un peor pronóstico, sin embargo, todavía se considera como un factor IIB[116].

1.12.4 Factores de categoría III

Todavía no existen estudios suficientes para determinar su valor pronóstico.

1.12.4.1 Contenido de DNA

El contenido anormal de DNA (aneuploidía) se ha considerado como factor pronóstico adverso independiente en un gran número de estudios. El contenido de DNA tumoral se puede obtener mediante citometría de flujo o mediante técnicas de imagen analítica. La citometría de flujo es una técnica impracticable como procedimiento rutinario debido a la ausencia de estandarización y a la necesidad de material en fresco. Sin embargo, la estimación del contenido de DNA en las células tumorales mediante un estudio de imagen es aplicable en piezas de parafina. Al igual que en la citometría de flujo, el estudio por imagen del DNA, carece de estandarización en la técnica e interpretación, debido fundamentalmente a la gran heterogeneidad intratumoral. La “Sociedad Americana de Oncología Médica” no recomienda por el momento el empleo del estudio del DNA para determinar el pronóstico en el cáncer colo-rectal en estadíos precoces. Son necesarios más estudios para evaluar el impacto pronóstico del contenido de DNA empleando para ello técnicas que puedan ser reproducibles y estandarizadas[117].

1.12.4.2 Otros marcadores tumorales.

Existe un gran número de marcadores moleculares con potencial valor pronóstico en el cáncer colo-rectal:

- Genes supresores de tumores (LOH 1p, LOH 8p, LOH 5q, TP53).
- Oncogenes (K-ras, N-ras, c-myc).
- Genes inductores de apoptosis (bcl-2, BAX, apoptosis protease activating factor-1)
- Genes relacionados con la síntesis de DNA (thymidylate synthetase, thimidine phosphorylase).
- Factores de crecimiento y genes de receptores de factores de crecimiento (TGfA, TGfB, HER2(c-erbB-2), EGF-R).

- Cyclinas y genes inhibidores de la kinasa dependiente de la cyclina (p27, p21).
- Genes relacionados con la angiogénesis (factor de crecimiento del endotelio vascular VEGF).
- Genes de glicoproteínas y de moléculas de adhesión (CD44, E-cadherina (CDH1), sialo-Tn antigen).
- Metaloproteinasas de la matriz y sus inhibidores (MMPs, activador del plasminógeno tipo urokinasa).
- Genes supresores de metástasis (nm23-H1).
- Sobre-expresión de microRNA.
- Aberraciones epigenéticas como los niveles de metilación.
- PPARG.

En la actualidad aún no se ha demostrado el verdadero valor de estos marcadores tumorales en el pronóstico de los pacientes con cáncer colo-rectal, son necesarios muchos más estudios para obtener datos concluyente[118-120]s. De hecho, p53 representa probablemente al gen más ampliamente estudiado en el cáncer colo-rectal, se ha estudiado su pérdida de heterogocidad, la sobreexpresión proteica mediante inmunohistoquímica, y la detección de mutaciones tanto por secuenciación directa como por análisis del polimorfismo. A pesar del gran número de publicaciones y revisiones sistemáticas, permanece sin esclarecer el impacto de las anomalías de p53 en el pronóstico de los pacientes con cáncer de colon. Además, las diferentes mutaciones existentes dentro del mismo gen pueden tener consecuencias totalmente diferentes en el pronóstico de los pacientes. Por ejemplo, las mutaciones de K-ras tanto en el codón 12 como en el 13 se identifican hasta en el 75 % de los tumores, y se asocian en algunos estudios, pero no en todos a un peor pronóstico. El estudio multicéntrico RASCAL ha evaluado el significado pronóstico de las mutaciones en el codón 12 y 13 en 1721 pacientes en 13 países, observando que únicamente las mutaciones del codón 12 se relacionaron de forma independiente con un incremento del riesgo de recurrencia y muerte. Posteriormente, en un análisis posterior que incluyó a 4268 pacientes y en el que se consideraron 12 posibles mutaciones dentro de los codones 12 y 13, únicamente una mutación específica en el codón 12 que está presente en el 9% de los

pacientes, se relacionó con resultados adversos en los pacientes con ganglios positivos[121].

1.12.4.3 K-ras y el beneficio de los tratamientos diana contra el factor de crecimiento epidérmico

Las mutaciones de K-ras tienen un valor como factor predictivo de la ausencia de respuesta a ciertos tratamientos quimioterápicos. Un 45% de los pacientes con cáncer colo-rectal tienen el gen K-ras mutado, y ello implica una resistencia a tratamientos dirigidos contra el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) como cetuximab y panitumumab[122-124].

Un 14% de los pacientes con cáncer colo-rectal presentan un BRAF mutado. Los pacientes con cáncer colo-rectal avanzado tienen un pronóstico significativamente peor en cuanto a supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad, y tienen una respuesta inferior a los tratamientos anti EGFR.

1.12.4.4 La densidad de microvasos

La densidad de microvasos intratumorales refleja la angiogénesis que induce el tumor, y ello se ha relacionado en algunos estudios con una menor supervivencia. Se ha observado una correlación inversa entre la expresión inmunohistoquímica de CD31 o CD34 en los microvasos tumorales y la supervivencia.

1.12.4.5 Moléculas de superficie celular

Se han estudiado una gran cantidad de proteínas celulares, pero ninguna con la suficiente relevancia como para ser incluida dentro de la categoría I, IIA o IIB. Entre ellas, se encuentran los siguientes:

- HLA tipo I y II.
- CA 19-9 y CA 72-4.
- Sialyl Lex o sialosyl-Tn.
- Urokinase-type plasminogen activator (uPA) y plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2).
- Glucoproteína 72.
- P-glucoproteína.

- MUC-1 mucin.
- E-cadherina, integrinas, colágeno tipo IV, gelatinasa B (MMP-9, laminina, y tenascina).

1.12.4.6 Fibrosis peritumoral y respuesta inflamatoria

La respuesta estromal desmoplásica es frecuente en el cáncer colo-rectal invasivo y es responsable de la dureza tumoral. En algunos estudios se ha observado que la fibrosis es un factor pronóstico adverso independiente.

Pocos estudios han analizado el significado pronóstico de la inflamación tumoral mediada por granulocitos o por un tejido inflamatorio celular mixto, pero en la mayoría de ellos se ha observado una asociación con una mayor supervivencia.

Al igual que en otros tipos de tumores, la presencia de un infiltrado tumoral linfocitario es un factor pronóstico favorable en la mayoría de los estudios. En particular, una alta densidad de células T CD8+ y células CD45R0+ dentro de las poblaciones linfocitarias, se ha correlacionado con la ausencia de una invasión metastásica precoz, y con un aumento de la supervivencia de los pacientes. Recientemente se ha observado que una alta densidad de diferentes tipos de células T, caracterizadas por un fenotipo CD4+, CD25+, tiene un significado pronóstico relevante en el cáncer colo-rectal[124, 125].

1.13 IMPORTANCIA DEL MARGEN DE INVASIÓN TUMORAL Y DE LA ZONA DE TRANSICION EPITELIO-MESÉNQUIMA EN LA PROGRESIÓN TUMORAL.

Los carcinomas son un grupo de tumores malignos muy frecuentes, el desarrollo de metástasis debido a su progresión es responsable de la mayor parte de las muertes relacionadas con el cáncer. El desarrollo de metástasis es un proceso complejo y multifactorial en el que se produce una invasión tumoral local, una diseminación y un re-establecimiento de células malignas en focos tumorales localizados a distancia. Durante este proceso las células tumorales se trasladan entre los diferentes compartimentos anatómicos: en primer lugar, se produce la invasión local al atravesar la membrana basal epitelial y un crecimiento en el

tejido circundante, donde el tumor se desarrolla y pasa a la circulación linfática y sanguínea; para finalmente extravasarse del torrente circulatorio al lugar en el que se produce el implante metastásico. La penetración del tumor en los tejidos vecinos y la invasión local es un proceso dinámico que implica cambios e interacciones intercelulares, entre las células y la matriz extracelular y, una degradación, remodelación de la matriz extracelular mediante la producción de proteasas, reorganización del citoesqueleto, y adquisición de un potencial migratorio que permite la translocación tumoral celular. El debilitamiento de la adhesión intercelular es fundamental para la invasión tumoral al permitir la liberación de las células con potencial migratorio.

El frente de invasión tumoral es el área de interacción entre el tumor y el tejido del huésped, dónde se produce una disrupción de la arquitectura epitelial mediante la separación de las uniones intercelulares, las células adquieren movilidad y se independizan de la masa tumoral principal. Desde el punto de vista histológico el frente de invasión de los carcinomas sólidos, difiere substancialmente de las partes más centrales del tumor, mostrando una arquitectura menos diferenciada y menos cohesiva, apareciendo células aisladas o grupos celulares reducidos en contacto con el estroma peritumoral. Es precisamente en este lugar donde las células tumorales establecen con el estroma del huésped una serie de interacciones dinámicas recíprocas mediadas por factores de crecimiento, citokinas, componentes de la matriz extracelular y proteasas que degradan la matriz extracelular. Un ejemplo son los cánceres de tipo difuso como son el carcinoma lobulillar de la mama o el carcinoma difuso gástrico, donde la totalidad de la masa tumoral está compuesta por células dispersas que han perdido sus características epiteliales, con poca diferencia entre la periferia y la parte central del tumor[126].

En el frente de invasión tumoral hay, por lo tanto, un patrón histológico que consiste en la presencia de células malignas independientes que se han liberado del tumor principal y que sobreviven dentro de la matriz intersticial del estroma. Existe cada vez, una mayor evidencia de que este cambio en la arquitectura tisular tumoral tiene un significado en la modulación tumoral y se conoce con

el nombre de zona de transición epitelio mesénquima. En la zona de transición epitelio-mesénquima (TEM), lugar en el que las células epiteliales se transforman en células mesenquimales, existen tres tipos celulares funcionales diferentes: el tipo I lo encontramos durante el desarrollo embriológico normal donde las células epiteliales primitivas se convierten en células mesenquimales móviles. El tipo II durante la cicatrización de los tejidos adultos, regeneración tisular y fibrosis de los órganos. Y el tipo III que se observa en el frente de invasión de los cánceres de mama, de páncreas y colo-rectales; con células mesenquimales anormales que han perdido la influencia de los mecanismos de control celular y han aumentado su movilidad. El fenotipo TEM es además es un proceso que podría explicar la ausencia de respuesta a los tratamientos neoadyuvante. La TEM representa la intersección de diferentes procesos durante el desarrollo humano. Durante la fase temprana del desarrollo embrionario, la TEM está implicada en la morfogénesis, pero se requieren células madre para la correcta implantación, gastrulación y organogénesis. En el organismo adulto la TEM y la zona de transición mesénquima-epitelio (TME) permiten el mantenimiento y la reconstrucción de los tejidos después de la inflamación, degeneración y fibrosis tisular. Por contra, está implicada en la progresión tumoral, en el desarrollo de metástasis y en la recurrencia tras el tratamiento quimioterápico.

Los hallazgos fundamentales de la zona de transición epitelio mesénquima son la pérdida de las uniones intercelulares, un aumento de la motilidad celular, y una liberación de células tumorales del tumor principal. El fenotipo mesenquimal resultante permite la migración, la invasión tumoral, la diseminación y la progresión metastásica. Las bases moleculares de la zona de transición de epitelio mesénquima todavía no se han descubierto por completo, pero se han identificado un gran número de vías de transducción y señales moleculares, como son factores de crecimiento, receptores tyrosin kinasa, Ras, GTPasas, Src, β -catenina, e integrinas. La mayoría de las vías moleculares tienen como efecto final una infra-expresión de la molécula epitelial E-cadherina, lo que conlleva al desarrollo de una zona de transición epitelio mesénquima y a un aumento de la invasión tumoral.

La transición epitelio mesénquima inapropiadamente activada en el adulto parece estar muy implicada en los mecanismos de invasión tumoral. De hecho, se cree que la invasión tumoral es un mecanismo de interacción celular, cuya pérdida de control conlleva a la invasión tumoral. El proceso histológico de formación de la zona de transición epitelio mesénquima es el siguiente: las células epiteliales están fuertemente unidas en su medio por desmosomas, bajo la influencia de diferentes mediadores (como son factores de crecimiento o citokinas). Las células epiteliales adquieren un fenotipo mesenquimal, asociado a diferentes propiedades etiológicas, pero fundamentalmente adquieren la capacidad de invasión y de metastatizar. De esta forma las células se pueden separar de su medio celular, perdiendo su polaridad baso-apical y adquiriendo motilidad[127].

Es muy importante que este proceso sea reversible y, las células mesenquimales bajo la influencia adecuada en una zona de transición mesénquima-epitelio puedan regresar a un fenotipo epitelial. Y ello será la clave en la formación de metástasis macroscópicas en los diferentes órganos.

Se puede caracterizar el estatus TEM o TME de las células. Existen varios marcadores de localización extracelular (fibronectina, vitronectina) y de localización celular (vimentina, E-cadherina) que son capaces de identificar el estatus TEM o TME. Los marcadores celulares son proteínas de la membrana citoplasmática (E-cadherina, claudinas, ocludinas, desmoplakinas) y, proteínas citoplasmáticas (citokeratinas, vimentina, o mucina). En particular, el fenotipo epitelial se caracteriza por la expresión de citokeratina, que estabiliza el citoesqueleto de las células epiteliales.

Uno de los aspectos moleculares fundamentales en la TEM (transformación de células tumorales epiteliales diferenciadas en células mesenquimales migratorias es la supresión de genes epiteliales, como el de la E-cadherina, lo que conlleva una pérdida de las uniones celulares epiteliales. Para la progresión tumoral y el desarrollo de metástasis la pérdida de E-cadherina es fundamental, debido a que proporciona el medio adecuado para la TEM en el tejido de invasión metastásico. Durante la TEM la E-cadherina es sustituida por N-cadherina. Los filamentos intermedios como la vimentina o las células

de músculo liso son utilizados como marcadores mesenquimales. El estatus de tejido epitelial se define por la integridad de E-cadherina, claudinas, ocludinas, o desmoplakina. Y el estatus de matriz extracelular se define por glucoproteínas como la fibronectina y vitronectinas, e integrinas celulares.

La transición epitelio mesénquima es un proceso altamente dinámico, multifactorial para el que es necesario la convergencia de forma coordinada de una serie de eventos clave. Los factores medioambientales en la superficie de contacto entre el tumor y el estroma podrían actuar como estímulos extrínsecos para la activación de eventos intracelulares que finalmente provocan la formación de la zona de transición epitelio mesénquima[128].

1.13.1 Modulación fenotípica en la progresión tumoral y mecanismos fisiopatológicos generales de la transición epitelio mesénquima

La arquitectura epitelial o mesenquimal representa el equilibrio entre las interacciones entre las células y entre las células y la matriz extracelular: si prevalecen las interacciones entre las células predomina una arquitectura epitelial, mientras que si prevalecen las interacciones entre las células y la matriz extracelular predomina una arquitectura mesenquimal. El epitelio normal es una estructura multicelular comprimida y polarizada, las células están firmemente unidas, sobre todo las que están apoyadas sobre la membrana basal. Sin embargo, los tejidos mesenquimales no están polarizados y las células tienen una mayor capacidad de movimiento. Las células epiteliales cubren linealmente cavidades y superficies funcionando como barreras protectoras con importantes funciones de secreción y absorción. Las células mesenquimales junto con la matriz extracelular rellenan espacios intersticiales y liberan factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factores de crecimiento epidérmicos (EGF), y factores de crecimiento de hepatocitos (HGF). El principal sistema de adherencia en el epitelio es la E-cadherina, fundamental en las interacciones entre células, porque estabiliza la arquitectura multicelular, y permite la formación de capas continuas de células. El sistema de adhesión en las células mesenquimales es dinámico, y permite su desplazamiento. La

E-cadherina proporciona un mecanismo de unión entre las células y es fundamental para el establecimiento y el mantenimiento de la polaridad y de la integridad estructural del epitelio, funcionando además como mecanismo de señalización celular. Es una glucoproteína transmembrana con un dominio extracelular que interacciona con las moléculas de E-cadherina de las células adyacentes, y un dominio intracelular asociado a un complejo multiproteico formado por α -, β - y p120 catenina. La B-catenina se une fuertemente al dominio citoplasmático de la E-cadherina y a través de la α -catenina, a la red de microfilamentos de actina del citoesqueleto, existe por todo ello, una importante relación entre la unión entre células y la maquinaria intracelular para regular la migración celular. Debido a la relación entre la E-cadherina y los componentes del citoesqueleto, los cambios en la molécula de E-cadherina provocan una pérdida de adherencia y un reordenamiento del citoesqueleto y viceversa. La unión entre la E-cadherina con cateninas y con la actina del citoesqueleto es fundamental para una fuerte adhesión intercelular, y cualquier evento que perturbe el complejo cadherina/catenina/citoesqueleto conlleva una desestabilización de la adhesión intercelular y una reordenación del citoesqueleto de actina. La E-cadherina es el complejo funcional básico que mantiene a las células unidas, inmóviles y en un estado estable. La pérdida de la unión intercelular es muy importante durante la progresión tumoral, debido a la necesidad de la motilidad celular. Su infra-expresión provoca una desestabilización tisular, una pérdida de la polaridad celular, su separación de las células vecinas, y la migración individual. La E-cadherina actúa como un supresor tumoral contra la invasión tumoral y contra el desarrollo de metástasis, estando su función abolida durante la progresión tumoral en la mayoría de los carcinomas por una serie de mecanismos. Funciona además como un inhibidor de la β -catenina, previene la activación de la vía molecular Wnt/ β -catenina manteniendo la cohesión y la estabilidad celular. El efecto de la pérdida de la función de la E-cadherina es más evidente en los carcinomas de tipo difuso, en los que existe una pérdida de la cohesión celular derivada de un patrón de crecimiento de la zona de transición epitelio mesénquima. Entre ellos el carcinoma lobulillar invasivo de mama y el carcinoma difuso gástrico son los que tienen un

mayor porcentaje de mutaciones genéticas que inactivan la E-cadherina[129].

La reducción de la adhesión intercelular dependiente de la E-cadherina en estos tumores aumenta la permeabilidad de las células tumorales a través del tejido intersticial produciendo un patrón de crecimiento infiltrativo difuso. La mayoría de los carcinomas lobulillares de mama no muestran una reactividad inmunohistoquímica a la E-cadherina, habiendo perdido completamente su expresión como consecuencia de la mutación y de la pérdida de heterogeneidad del gen de la E-cadherina, o como consecuencia de la metilación del promotor de la E-cadherina, también son posibles otros mecanismos todavía no descritos. Se han descrito altos niveles en el carcinoma lobulillar de mama del factor Twist inductor de la zona de transición epitelio mesénquima, lo que sugiere que su factor de transcripción puede inducir la pérdida de la adhesión intercelular y una disminución de la transcripción de la E-cadherina. Igualmente se han hallado niveles elevados de Twist en el carcinoma difuso gástrico. Además de las mutaciones en el gen de la E-cadherina, y de su infra-expresión mediado a través de Twist, la hiper-expresión de N-cadherina también podría ser un mecanismo responsable de la pérdida de la función de E-cadherina y de la zona de transición epitelio mesénquima. Sin embargo, a pesar de tener un fenotipo de células pobremente adheridas, algunos tipos de carcinomas difusos pueden mantener la expresión inmunohistoquímica de E-cadherina, lo que sugiere una inactivación funcional de E-cadherina. Se ha observado que la integridad funcional y estructural del complejo E-cadherina-catenina está regulado por la fosforilación, y que la tirosin-fosforilación de la β -catenina rompe la unión entre la β -catenina y la E-cadherina, de esta forma la β -catenina libre estaría disponible para la señalización nuclear. La β -catenina tiene un papel biológico doble, por una parte, mantiene la unión intercelular cuando se localiza en las uniones intercelulares, y por otra parte actúa como un factor de transcripción al translocarse al interior del núcleo celular. Existen además estudios que han demostrado que la pérdida de E-cadherina en el carcinoma lobulillar invasivo de mama, en el carcinoma difuso gástrico, y en carcinoma colo-rectal, provoca un cambio en la localización de la catenina p120 desde las uniones

intercelulares hasta el interior del citoplasma, donde es capaz de promover la motilidad celular mediante la regulación de los miembros de la familia Rho GTPasa[130].

Para la desestabilización coordinada de las interacciones intercelulares y la estimulación de la asociación dinámica entre las células y la matriz extracelular, son necesarios una serie de complejos eventos moleculares, que incluyen a los sistemas de transducción y de señalización molecular, activación de factores nucleares de transcripción, factores de crecimiento: factor de crecimiento β (TGF β), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), y factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), mecanismos epigenéticos como miRNA, mecanismos de regulación transcripcional que producen una supresión transcripcional directa del gen E-cadherina: Snai1, Snai2, ZEB1 (EF1, ZFH1A), ZEB2 (SIPI, ZFH1B), la proteína E12/E47 y Twist[131].

Los estímulos que parece que juegan un papel más importante son factores de crecimiento y sus receptores celulares de superficie (receptores tirosina o serina-threonina kinasa), moléculas relacionadas con la matriz extracelular (integrinas, colágeno, y proteasas que degradan la matriz extracelular) y vías de transducción (Ras, Src, β -catenina). Las proteasas que degradan la matriz extracelular a nivel de la superficie tumor-estroma actúan precozmente y contribuyen a la destrucción de la membrana basal de los tumores, y ello es un paso de vital importancia porque abre un camino para que las células tumorales puedan desplazarse hasta el espacio intersticial y puedan migrar durante la formación de la zona de transición epitelio mesénquima. En condiciones normales la integridad de la membrana basal previene el contacto entre las células epiteliales y el microambiente intersticial. De esta forma, la exposición de las células tumorales a los factores de crecimiento presentes en el compartimento intersticial podría activar los receptores de tirosin kinasa o serina-threonina kinasa en la superficie epitelial basal e iniciando de ese modo la disociación celular y la estimulación de la zona de transición epitelio mesénquima. De forma parecida, el contacto directo de las células tumorales con los diferentes tipos de colágeno intersticiales del estroma podría promover la formación de la transición epitelio mesénquima. La activación de las

vías moleculares Ras, Src, o β -catenina, y un pequeño cambio en el balance de la actividad de Rho GTPasa podría promover señales transcripcionales, provocando una mayor disociación celular e induciendo la remodelación de la actina del citoesqueleto y de la forma celular necesarias para el movimiento. Finalmente, las células tumorales liberadas de sus contactos con las células vecinas y con capacidad de movimiento, podrían abandonar el compartimento epitelial, migrar e invadir el estroma. La vimentina es el principal filamento intermedio del citoesqueleto de las células mesenquimales, y está sobre-expresado en la zona de transición epitelio mesénquima, estando su expresión relacionada con la adquisición de un fenotipo migratorio y con la invasión celular. La proteína fibroblástica 1, es otro marcador mesenquimal expresado en las células de la zona de transición epitelio mesénquima. Se trata de una proteína citoplasmática que interacciona con el citoesqueleto, el cual se ha visto relacionado con las células con una morfología de tipo mesenquimal y con un aumento de la motilidad celular. Se ha observado la expresión de FSP1 en células metastásicas, lo que indicaría la influencia de la transición epitelio mesénquima en la progresión metastásica[132-134].

Las vías moleculares que controlan la TEM son complejas e interaccionan con diferentes vías implicadas en el desarrollo del cáncer. Se trata de las vías que controlan la expresión del TGF- β y de la β -catenina, que expresan su función a través de un gran número de mediadores intracelulares que constituyen un complejo multiproteico: axina, glucógeno sintetasa kinasa 3- (GSK3 β) y la proteína supresora de tumores de la poliposis adenomatosa colónica (APC). El TGF- β está implicado en el proceso de formación de la TEM y durante los estadios iniciales de la progresión del cáncer controlando la proliferación y diferenciación celular, en los estadios tardíos es perjudicial impidiendo la muerte de las células neoplásicas.

Existen otros mediadores como son SMAD4, Snail, Slug y factores de transcripción. Un incremento de la β -catenina nuclear produce una activación de los factores de transcripción TCF/LEF y un incremento de la producción de los genes inductores de TEM (c-myc y ciclina). SMAD4 es una proteína intracelular que transduce una gran variedad de señales extracelulares, y se encuentra codificada en el cromosoma

18q21. Normalmente, el complejo activado SMAD4 penetra en el núcleo e inhibe la transcripción de los principales factores implicados en la activación de las vías moleculares que promueven la TEM: Snail (SNAI1), Slug (SNAI2), Twist y ZEB1 (Zinc finger E-Box-binding homebox)[132, 135, 136].

1.13.2 Tumor budding y frente de invasión tumoral

A la presencia de células tumorales aisladas o racimos de pequeñas células tumorales en el frente de invasión de un tumor se le llama “tumour budding” o tumor incipiente. Ello implica que células móviles que se han separado del tumor principal, proliferan fuera del control en un medio potencialmente hipóxico. Existe una fuerte evidencia de que el “tumor budding” en este frente de invasión indiferenciado se relaciona con la zona de transición epitelio-mesénquima. Es un fenómeno morfológico que se observa en el frente de invasión tumoral y se caracteriza por pequeños racimos de células tumorales aisladas, que se han liberado del epitelio neoplásico y han migrado una pequeña distancia dentro del estroma neoplásico, ello explicaría una mayor agresividad en aquellos tumores en los que se observa este hecho. En el carcinoma colo-rectal humano la evaluación del “tumor budding” constituye un marcador pronóstico muy útil, sin embargo, todavía no se han descrito con exactitud los mecanismos de formación del mismo. Estudios recientes han demostrado que el cáncer colo-rectal está constituido por una población de células heterogéneas, entre las que se encuentran subgrupos celulares que tienen la capacidad de iniciar y propagar tumores con una gran eficacia. Esas células son conocidas como células madre tumorales o como células iniciadoras de tumores, y tienen características propias de las células madre, capacidad de autoregeneración, multipotencialidad y resistencia a la quimioterapia y a la radioterapia. Se han identificado muchos marcadores de células madre tumorales colo-rectales, entre ellos se encuentran: Lgr5, CD44, aldehído deshidrogenasa (ADH), y CD133. Las células CD133+ se localizan en la base de las criptas en el intestino y generan la totalidad del epitelio intestinal, por ello se cree que dichas células son células intestinales madre, con capacidad de generación de tumores a partir de mutaciones, e incluso se ha observado que los pacientes con mutaciones

presentes en dichas células presentan un peor pronóstico con una menor supervivencia[137-139].

Semba S et al, ha demostrado que las células tumorales colorectales CD133+ muestran características de células madre, como son la pluripotencialidad, la progresión tumoral y una gran sensibilidad al factor de crecimiento tumoral β (TGF β). De hecho, el tratamiento con TGF- β 1 aumenta el número de células que expresan CD133 y SNAI1. Además, en las células CD133-, SNAI1 induce la formación de TEM, restaurando la población de células CD133+, incrementando la capacidad tumoral, la motilidad, la capacidad de infiltración, y la expresión de la matriz de metaloproteinas 2 (MMP2). En los cánceres de colon estadio II la existencia de “tumor budding” se relaciona con un incremento de los niveles de SNAI1, y con un incremento de la incidencia de metástasis ganglionares metacrónicas tras la resección quirúrgica, por ello estos autores creen que TGF β regula la inducción de la TEM y la restauración de las células tumorales madre en el cáncer colo-rectal, lo cual indica la gran importancia del microambiente en el frente de invasión tumoral para la formación de los brotes tumorales o tumor incipiente[140].

E-cadherina suele estar ausente el “tumor budding” y en el frente de invasión tumoral, incluso estando presente en el tumor principal. Esta pérdida de integridad celular sería una condición necesaria para el desarrollo del “tumour budding”, que a su vez se relaciona con un aumento de las metástasis ganglionares, metástasis a distancia, recurrencia local y en definitiva con un peor pronóstico.

La mutación que se encuentra más frecuentemente en el carcinoma colo-rectal es la del gen supresor APC (en más del 80% de los pacientes), lo que provoca una acumulación de la β -catenina activa. Debido a la pérdida de E-cadherina y a la gran acumulación de β -catenina en el núcleo celular, las células tumorales localizadas en el frente de invasión reducen su capacidad proliferativa, hasta que recuperan de nuevo su fenotipo epitelial. La modulación dinámica de la E-cadherina que ocurre durante la invasión/transición epitelio mesénquima y durante la proliferación/transición mesénquima epitelio es posible gracias a la rápida reversibilidad de la fosforilación y defosforilación de la β -catenina mediada por las tirosín kinasas y por

las fosfatasa. En la actualidad se cree que la fosforilación de la β -catenina provoca la rotura del complejo E-cadherina- β -catenina y por tanto la pérdida de la adhesión intercelular, la disociación de las células tumorales del foco primario tumoral y la invasión; mientras que la recuperación de la adherencia intercelular mediada por las fosfatasa promueve la agregación de las células tumorales a distancia para formar colonias celulares o focos metastásicos. Se cree que la naturaleza extremadamente dinámica de la regulación de la E-cadherina mediada a través de Snail durante la progresión tumoral podría ser el resultado de cambios en la actividad de GSK- β 3, clave molecular en el mantenimiento del fenotipo epitelial. La reducción en la expresión de E-cadherina favorece la liberación celular y la diseminación, pero la recuperación de la expresión de E-cadherina favorece el reagrupamiento celular y la progresión de las metástasis. La invasión tumoral inicial requiere una rápida disminución GSK- β 3, mientras que la re-expresión y mantenimiento de E-cadherina en el nuevo foco tumoral metastásico requiere la degradación de Snail mediante la reactivación de GSK- β 3. Se ha observado que la zona de transición epitelio mesénquima en el carcinoma de colon coincide con un incremento del receptor de fibronectina $\alpha\beta$ 6 integrina, una integrina cuyo incremento de expresión inmunohistoquímico se observa en el frente de invasión tumoral. El factor de transcripción Ets-1 induce un aumento de la expresión de $\alpha\beta$ 6 integrina, lo que promueve la activación de la producción autocrina de TGF- β , lo que perpetúa la zona de transición epitelio mesénquima. Además, la expresión elevada de $\alpha\beta$ 6 integrina se asocia con una reducción de la supervivencia al compararlo con los tumores en los que expresión de esta integrina está disminuida o ausente, por ello puede tener una importante implicación como factor de riesgo tumoral[141].

Lugli et al, demostraron en un estudio con 1197 tumores colorectales que un incremento de la expresión de β -cadherina nuclear y una pérdida de la E-cadherina se relaciona de manera independiente con un mayor estadio tumoral, una mayor invasión vascular y una menor supervivencia. Otros estudios han relacionado una pérdida de la E-cadherina con un aumento de los marcadores tumorales y una peor supervivencia[142].

Existe una disminución de la expresión de SMAD4 en un 10-70% de los cánceres colo-rectales, siendo ésta mucho mayor en los tumores más avanzados. Un estudio con 479 pacientes con cánceres colo-rectales evidencio una pérdida de la expresión de SMAD4 en un 52% de los pacientes. En un estudio se ha demostrado que en 145 pacientes con cáncer colo-rectal estadios II y III, que la presencia de mutaciones en el cromosoma 18q se asocia a una disminución de la supervivencia. En 189 pacientes estadio III se observó una recurrencia precoz en aquellos en los no existía expresión tumoral SMAD4 al compararlos con los que si expresaban SMAD4 (20 vs 35 meses, $p=0,035$)[143].

1.13.3 Regulación epigenética de la TEM

Los mecanismos de regulación epigenética son una serie de modificaciones estables pero reversibles que no afectan directamente a la secuencia primaria del DNA, pero si al mecanismo transcripcional. Ello interviene en la expresión genética y está mediado por la metilación del DNA de los dinucleótidos y por varias modificaciones post-transcripcionales covalentes del NH2 terminal de las histonas, lo que incluye la acetilación, metilación y fosforilación. La metilación del DNA, la di y la trimetilación de la lisina 9 H3 (H3K9) y la trimetilación de H3K27 provocan la condensación cromática, lo que permite la ausencia de expresión de los genes a través de la heterocromatina 1 (HP1) y del grupo de las proteínas polycomb. Diferentes acciones epigenéticas como son la hipometilación global, la hipermetilación específica de los islotes CpG, y las oncomodificaciones de las histonas se han relacionado específicamente con la carcinogénesis, formando parte de los mecanismos epigenéticos regulatorios implicados en el control de TEM/TME.

Se han descrito múltiples mecanismos epigenéticos implicados en el proceso de TEM, donde se produce la represión de marcadores epiteliales y la conversión de células epiteliales en células tumorales agresivas e invasivas. En los carcinomas de células orales la hipermetilación del promotor CDH1 se correlaciona inversamente con la expresión de E-cadherina, y el tratamiento con un agente desmetilizante (5-azacytidina) provoca la re-expresión de E-cadherina en las líneas celulares que no expresan el represor SIP1 de la E-

cadherina. Se han obtenido resultados similares en las células del cáncer de mama, donde el promotor de la hipermetilación CDH1 provoca más que una inactivación mutacional, una reducción de la expresión de E-cadherina.

Se han relacionado con el proceso de TEM muchos factores de transcripción, como son Twist, Snai1 (Snail), Snai2 (Slug), que funcionarían como mediadores en las alteraciones moleculares que suceden durante el proceso TEM. Se ha demostrado en varios estudios que las modificaciones epigenéticas contribuyen a la función represiva de dichos factores de transcripción en los genes epiteliales. Snail recluta la demetilasa de histonas (LSD1, KDM1A, AOF2), que retira la dimetilación de Lys4 en la histona H3 (H2K4m2), mediando en la represión transcripcional de Snail sobre determinados genes como CDH1. La depleción de LSD1 Produce una re-expresión parcial de los genes epiteliales que se relacionan con un incremento de los niveles de H3K4m2 en el promotor de CDH1. Los factores de transcripción que inducen la TEM interaccionan también con HDAC1 y HDAC2 y con el co-represor mSin3A a través de su dominio N-terminal SNAG, así como con el complejo proteico represivo polycomb (PRC2), lo que provoca un silencio epigenético del promotor CDH1. Además, se ha demostrado que el factor de transcripción twist interacciona con la monometiltransferasa SET8, que funciona como un represor o inductor de la expresión de genes. Es interesante la interacción de twist con SET8, porque como efecto final de la modificación epigenética dual en los promotores de E y N-cadherina, se induce la expresión de N-cadherina y la inhibición de E-cadherina a través de la monometilación de H4K20.

Snail interacciona con varios complejos supresores que incluyen HDAC, PRC2 y Ajuba-PRMT5. Snail provoca modificaciones bivalentes en las histonas (ej., coexistencia de H3K4m3 y H3K27m3), lo que provoca en determinados genes susceptibles su reactivación. Ello es muy interesante porque explica la reversibilidad de la TEM, que en determinadas circunstancias vía TME pueden generar (ej., metastatizar) células con características epiteliales.

Existe suficiente evidencia científica para afirmar que la familia de miRNA-200 y miRNA-205, desempeñan un importante papel en el

complejo regulador de la TEM. En el contexto de la regulación epigenética de la TEM, se ha observado que la CpG al inicio de la transcripción de miRNA-200c y miRNA-141, puede desmetilar miRNA provocando la expresión de células tumorales normales, o metilar intensamente el miRNA produciendo células invasivas tumorales. La expresión de miRNA aumenta con el enriquecimiento con cromatina que permite modificaciones en las histonas (H3 acetilación y H3K4 trimetilación). De la misma forma se ha demostrado que en líneas celulares tumorales epiteliales 5-CpG de los miembros de la familia de miRNA-200 son desmetilados, mientras que la hipermetilación provoca el silencio de los miRNAs y la transformación en células mesenquimales. La reversibilidad de este estado de metilación media en la transformación entre TEM y TME. Se han obtenido resultados similares en líneas celulares en el cáncer de vejiga y de mama. Se ha observado también que la expresión de miRNA-200b y 200c ectópicos, inhibe la expresión de la traducción de ZEB1 e inhibe los complejos represores ZEB1-histona deacetilasa. Ello provoca un incremento de la acetilación de las histonas y la expresión de E-cadherina. Es interesante como en estas células de cáncer de mama la quimio y radiosensibilidad se incrementa con un aumento de las vías apoptoicas mediadas por p53[132, 144-146].

1.13.4 Opciones terapéuticas y TEM

El objetivo principal de la terapia epigenética es renovar el epigenoma de las células, recuperando el nivel de la expresión normal de los genes epigenéticamente inhibidos. Ha incrementado en los últimos años nuestra comprensión de la asociación entre las modificaciones del DNA o de las histonas vía metilación o acetilación y las enfermedades humanas, permitiendo el desarrollo de fármacos con un funcionamiento epigenético, algunos de los cuales ya ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer. La combinación de inhibidores de la DNA metiltransferasa (DNMTi) y los inhibidores de la histona deacetilasa (HDACi), ha proporcionado resultados prometedores en el tratamiento del síndrome mielodisplásico, el linfoma no Hodgkin (en especial linfoma de células T y el linfoma difuso de células B), y la leucemia mieloide aguda. Sin embargo, la aplicación

clínica de este tipo de fármacos para el tratamiento de tumores sólidos sólo se ha empleado como terapia experimental en pacientes con enfermedad refractaria o recurrente.

Muchos estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* focalizados en los efectos antiproliferativos, antiangiogénicos, y proliferativos, de las terapias epigenéticas, han demostrado cuáles son sus mecanismos moleculares. Investigaciones recientes han revelado que la acetilación y la desacetilación forman parte de una red celular integrada de regulación: la acetilación afecta a la unión del DNA, a la reparación del DNA, al control del ciclo celular, al transporte nuclear, la remodelación de la actina, y a las funciones de los ribosomas y de las chaperonas. El ácido hidroxámico pan-DACi (panobinostat LBH589), es un potente inhibidor de los enzimas HDAC, influye en la proliferación, en la apoptosis, y en la expresión de los marcadores de diferenciación y TEM mediante una hiperexpresión de marcadores epiteliales (citoqueratinas) y una infraexpresión de marcadores mesenquimales (vimentina). La combinación del inhibidor histona deacetilasa SAHA, y el inhibidor de la metiltransferasa Zebularine, altera los patrones de diferenciación en los modelos de cáncer de páncreas. En el tratamiento de los síndromes mielodisplásicos (MDS) y de la leucemia mieloide aguda (AML) con el inhibidor de la metilación del DNA se inducen cambios morfológicos que alteran la capacidad de formación de colonias y la expresión de marcadores de expresión hematopoyéticos[126, 147-149].

1.13.5 Zona de transición epitelio-mesénquima y la respuesta al tratamiento neoadyuvante

La resistencia a la terapia neoadyuvante es un grave problema clínico en el tratamiento de los tumores sólidos (tumores esofagogástricos, colo-rectales, mamarios, pancreáticos y pulmonares). La disminución del estadio tumoral en el cáncer de recto con la terapia neoadyuvante es un hecho que implica un buen pronóstico. Aproximadamente entre un 5 y un 20% de los pacientes tienen una respuesta patológica completa (sin tumor residual en el estudio patológico de la pieza quirúrgica) tras el tratamiento neoadyuvante, sin embargo, entre un 40 y un 60% de los pacientes no responden y se exponen a un tratamiento de quimio y radioterapia que además de tener

un riesgo de toxicidad y complicaciones a corto y a largo plazo no desdeñable, retrasan el tratamiento quirúrgico permitiendo la progresión de la enfermedad. Las razones para el fracaso de la respuesta de la terapia neoadyuvante se desconocen y han de ser objeto de estudio e investigación[150].

La quimiorresistencia y la recidiva tras el tratamiento con quimioterapia están influenciadas por el estado de diferenciación celular y por la relación TEM/TME, por ello el estado de diferenciación del tumor debería de caracterizarse antes, durante y tras el tratamiento con el fin de obtener una estadificación predictiva, pronóstica y terapéutica personalizada. Se ha demostrado que la expresión de los marcadores mesenquimales básicos (vimentina, E-cadherina) en el adenocarcinoma ductal de páncreas, se relaciona con una menor supervivencia. En la actualidad sólo existen estudios experimentales que defienden la teoría de que el tratamiento epigenético de las líneas celulares tumorales influye directamente en el eje Twist-Snail/ZEB-E-cadherina, e indirectamente en los inductores de la TEM como son Wnt-TGF β -BMP. Existen estudios recientes en relación al estado de metilación de diferentes líneas celulares del cáncer gástrico que han demostrado que la metilación del DNA predice la ausencia de respuesta de dichas líneas celulares al tratamiento con cisplatino, y que el tratamiento dirigido contra el gen BMP-4 aumenta la sensibilidad de las células tumorales al tratamiento con quimioterapia. Teniendo en cuenta todo lo anterior se puede pensar que la invasión tumoral, el desarrollo de metástasis y la resistencia a la quimioterapia en las que está la TEM muy implicada tanto en la iniciación como en su desarrollo, pueden ser objetivo de las terapias epigenéticas[151].

Se ha observado una relación entre la quimiorresistencia y la zona de transición epitelio mesénquima en los tumores colo-rectales, en los tumores de ovario, de páncreas, de mama y de pulmón. Se ha demostrado que no es la radioterapia la que induce la formación de la zona de transición epitelio mesénquima, ya que los marcadores mesenquimales ya están presentes en las biopsias realizadas previas al tratamiento neoadyuvante. Incluso Shintani et al, han observado la ausencia de marcadores de tejido mesenquimal en los pacientes en los que ha existido una respuesta patológica completa. El papel exacto de

la zona de transición epitelio mesénquima como biomarcador independiente de la respuesta o ausencia de respuesta al tratamiento neoadyuvante requiere de una mayor investigación[152].

Aunque existen múltiples vías relacionadas con la progresión de la TEM, sin duda la que tiene una mayor importancia es la relacionada con el TGF- β , de hecho, la exposición de una línea celular en el cáncer colo-rectal al TGF- β , induce la progresión de la TEM. La metformina es el hipoglucemiante que más se emplea para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Se ha observado un aumento de la supervivencia que además es dosis dependiente en los pacientes con cáncer colo-rectal, de endometrio y mama, a los que se les administra metformina para el tratamiento de su diabetes. La acción biológica de la metformina consiste en la activación de la 5-adenosina monofosfato (AMP), de la proteína kinasa activada (AMPK), además de disminuir la transcripción de los factores de la TEM (TGF β -1, ZEB, TWIST y SLUG) y un aumento de la expresión de la E-cadherina. Se ha observado en los pacientes diabéticos tratados con metformina un aumento de la tasa de respuesta patológica completa al tratamiento con quimioterapia (24%) al compararla con los pacientes diabéticos no tratados (8%), y con los pacientes no diabéticos (16%). Debido a su baja toxicidad, la generalización del uso de metformina sería una opción particularmente atractiva para conseguir una potencial regresión y prevención de la TEM, y un consecuente aumento de la tasa de respuesta a las terapias neoadyuvantes[153].

Los inhibidores de la cyclo-oxigenasa (COX), que son la llave enzimática para la conversión del ácido araquidónico a prostaglandinas, disminuyen el riesgo del desarrollo y de la progresión del cáncer. COX-2 está altamente expresada en gran cantidad de tumores, sobre todo en el cáncer de vejiga y en el cáncer de colon. Se ha observado un aumento de la expresión de la E-cadherina en células humanas de cáncer de vejiga tras un tratamiento con inhibidores de la COX-2. Tiene especial interés la prevención de la secuencia adenoma-carcinoma en el cáncer colo-rectal; ello ha estimulado su investigación en la prevención-regresión de la TEM. Se ha observado en líneas celulares en laboratorio una reducción de la expresión de vimentina y un incremento de la expresión de E-cadherina en la superficie celular. La presencia de

receptores COX-2 positivo y la ausencia de E-cadherina se asocia a una supervivencia inferior a la existente cuando alguno de estos factores está presente de forma aislada, lo que sugiere una posible interacción entre ellos[154].

Cada vez existe una evidencia mayor de que la zona de transición epitelio mesénquima tiene un papel muy importante en el desarrollo del cáncer debido a que dota a las células tumorales de un mayor potencial migratorio. El proceso inverso, la zona de transición mesénquima epitelio es también necesario porque permite a las células una vez que han migrado de la zona de transición epitelio mesénquima, crecer, formar nuevas colonias y metástasis. Desde el punto de vista histológico, las células derivadas de la zona de transición epitelio mesénquima las podemos encontrar en estadios avanzados de tumores sólidos donde las características epiteliales del tumor se encuentran atenuadas, y constituyen el grueso tumoral en los tumores difusos como son el carcinoma lobulillar de la mama y el carcinoma difuso gástrico. En los carcinomas sólidos la zona de transición epitelio mesénquima es un fenómeno transitorio que incluye sólo a una minoría de las células de la periferia de la masa tumoral, sin embargo, la totalidad de la población celular tumoral de los carcinomas de tipo difuso tiene un fenotipo permanente similar al de la zona de transición debido a la inactivación irreversible de la E-cadherina. La pérdida de la expresión citoplasmática de E-cadherina, $\alpha\beta6$ integrina, y la expresión nuclear de β -catenina en el frente de invasión, así como la expresión de novo de FSP1, vimentina, fibronectina y N-cadherina son marcadores inmunohistoquímicos de la zona de transición epitelio mesénquima indicando a su vez un patrón histológico invasivo. La expresión de algunos factores de transcripción inductores de la zona de transición epitelio mesénquima como son Snail y Twist, se han observado en recidivas de cánceres de mama y en metástasis, por lo que podrían ser empleados como marcadores funcionales de la progresión tumoral, ello sugiere que la identificación de nuevos marcadores localizados en la zona de transición epitelio mesénquima podrían ser muy útiles para la predicción de la evolución de la enfermedad tumoral en estadios precoces, y conocer el pronóstico de los pacientes de forma individual. Además, podrían emplearse en el desarrollo nuevos tratamientos para

el tratamiento del cáncer. El motivo por el cual fracasa el tratamiento del cáncer en la mayoría de los pacientes se debe a la formación de metástasis y a la resistencia a los tratamientos quimioterápicos convencionales. Por ello, el hecho de poder bloquear los mecanismos iniciales en la invasión tumoral y en el desarrollo de las metástasis, bloqueando el desarrollo de la zona de transición epitelio mesénquima y su inversa, la zona de transición mesénquima epitelio, serían estrategias terapéuticas extremadamente útiles en el tratamiento del cáncer, y sin duda tendrán un papel muy importante en el futuro[155-157].



MATERIAL Y MÉTODO

2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Este estudio ha sido aprobado por el Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia adscrito a la Secretaría Xeral Técnica de la Consellería de Sanidade (CÓDIGO DE REGISTRO 2018/391).

El doctorando declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la tesis doctoral.

Se ha realizado un estudio retrospectivo, descriptivo, de una serie de casos, para el análisis de la supervivencia global y libre de enfermedad, en el que se han incluido a pacientes sometidos a una o varias resecciones de metástasis hepáticas de origen colo-rectal durante el periodo de tiempo comprendido entre Enero del año 2005 y Diciembre del año 2010 en el Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. Durante este periodo de tiempo se han intervenido 898 tumores colo-rectales y se han intervenido 114 pacientes a los que se les realizó una o varias resecciones de metástasis hepáticas. Para este estudio se han considerado únicamente a aquellos pacientes que habiendo sido intervenidos del tumor primario en el mismo Hospital se conserva en el servicio de anatomía patológica la biopsia del tumor colónico y de la lesión metastásica y, ha sido posible su estudio inmunohistoquímico. Se han estudiado datos demográficos, clínicos, analíticos, datos en relación al tratamiento quimioterápico recibido, datos anatomo-patológicos, y datos en relación a la recurrencia y a la supervivencia. Las variables de interés como potenciales factores pronóstico se han enumerado en la tabla 1.

2.2 HIPÓTESIS

Los pacientes con cáncer colo-rectal con metástasis hepáticas que han sido tratados con cirugía y quimioterapia, tienen una supervivencia global y libre de enfermedad muy variable, que puede oscilar entre unos meses hasta la curación en algunos casos. Creemos que existen variables clínicas, quirúrgicas, oncológicas y, patológicas que pueden determinar esas diferencias en la supervivencia tan notables, en lo que a priori tiene la consideración de una misma enfermedad.

2.3 OBJETIVOS

1. Evaluar los resultados quirúrgicos post-operatorios y, oncológicos a corto y a largo plazo (supervivencia global y libre de enfermedad al año, a los tres años, y a los cinco años), tras la realización de una o de varias hepatectomías para la extirpación de una o de varias metástasis hepáticas de origen colo-rectal, siendo el tumor primario resecado con anterioridad, posterioridad o durante la misma intervención quirúrgica.
2. Determinar los factores pronósticos relacionados con la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad mediante el análisis de variables:
 - a. Clínicas:
 - i. Variables cualitativas: sexo (hombre/mujer), edad, localización del tumor primario (colon/recto), cirugía del tumor primario urgente (si/no), resección R0 del tumor colo-rectal (si/no), estadio T (1,2,3,4), estadio N (0,1,2,3), grado de diferenciación del tumor colo-rectal (pobrementemente diferenciado, moderadamente diferenciado, bien diferenciado), distribución de las metástasis (unilateral/bilateral), metástasis hepáticas sincrónicas (si/no), metástasis hepáticas metacrónicas (si/no), metástasis inicialmente resecables (si/no), metástasis pulmonares (si/no), RM prehepatectomía (si/no),
 - ii. Variables cuantitativas: edad, tamaño tumor primario, número de ganglios, número de metástasis hepáticas, tamaño de la metástasis mayor, CEA prehepatectomía.
 - b. Quirúrgicas.
 - i. Variables cualitativas: tipo de resección (anatómica/no anatómica), hepatectomía mayor (si/no), tipo de hepatectomía (hepatectomía derecha/hepatectomía izquierda/seccionectomía lateral izquierda/metastasesectomía/metastasesectomías

bilaterales múltiples), resección sincrónica (si/no), resección clásica (si/no), resección inversa (si/no), transfusión de más de dos concentrados de hematíes (si/no), morbilidad (dehiscencia anastomosis colo-rectal/complicaciones hepatectomía/ oclusión intestinal/ fístula biliar/ ascitis/ colección abdominal/ colección abdominal infectada/ insuficiencia hepática transitoria), relaparotomía (si/no), drenaje percutáneo (si/no), complicaciones Dindo/Clavien (I/II/IIIa/IIIb/Iva/IVb/V).

ii. Variables cuantitativas: duración de la intervención, mortalidad a 90 días,

c. Oncológicas.

i. Variables cualitativas: quimioterapia neoadyuvante a la hepatectomía (si/no), oxaliplatino neoadyuvante (si/no), irinotecan neoadyuvante (si/no), cetuximab neoadyuvante (si/no), oxaliplatino en última línea (si/no), irinotecan en última línea (si/no), cetuximab en última línea (si/no), bevacizumab en última línea (si/no), respuesta radiológica a quimioterapia adyuvante (completa/parcial/estabilización), quimioterapia adyuvante a la hepatectomía (si/no), oxaliplatino adyuvante (si/no), irinotecan adyuvante, cetuximab adyuvante (si/no), bevacizumab adyuvante (si/no), panitumumab adyuvante (si/no), recurrencia (si/no), recurrencia temprana (si/no), recurrencia tardía (si/no), situación actual (vivo libre de enfermedad/vivo con enfermedad/muerto).

ii. Variables cuantitativas: número de ciclos de tratamiento neoadyuvante, número de líneas de tratamiento neoadyuvante, número de ciclos en última línea neoadyuvante, número de líneas de

tratamiento adyuvante, número de ciclos de tratamiento adyuvante, tiempo de seguimiento, número total de re-hepatectomías, supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad.

d. Patológicas:

- i. Variables cualitativas: margen quirúrgico (R0/R1), invasión macrovascular (si/no), expresión inmunohistoquímica en la zona de transición epitelio mesénquima del margen tumoral del tumor primario colo-rectal y de la metástasis hepática de:
 - a. E-Cadherina, N-Cadherina.
 - b. Vimentina.
 - c. CD44.
 - d. CDX2.
 - e. MUC2.
- ii. Variables cuantitativas: número de metástasis, tamaño máximo de la metástasis.

2.4 METODO

2.4.1 Estudio preoperatorio

Todos los pacientes han sido evaluados previamente a la resección hepática de la enfermedad metastásica con un TC tóraco-abdomino-pélvico, y una RM hepática en los casos en los que existían dudas sobre la existencia o localización de una lesión hepática, una determinación analítica de los marcadores tumorales CEA y CA 19.9, y una colonoscopia. Se ha realizado una Tomografía de Emisión de Positrones (PET) en aquellos pacientes en los ha existido la sospecha de enfermedad extrahepática a distancia que contraindicase la resección. Y el tratamiento neoadyuvante se ha administrado en los pacientes con enfermedad inicialmente irresecable, o difícilmente resecable (enfermedad bilobar, >5 lesiones metastásicas, infiltración vascular); no obstante, en la actualidad se administra en prácticamente todos los pacientes, incluso en aquellos en los que la enfermedad hepática es resecable al inicio. Se evalúa la respuesta cada cuatro ciclos

de tratamiento quimioterápico de acuerdo a los criterios RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors). En el caso de que se hayan administrado varias líneas de tratamiento quimioterápico se ha tenido en cuenta la última. Las decisiones acerca del tratamiento quimioterápico y quirúrgico de cada uno de los pacientes son tomadas por un equipo multidisciplinar en el que participan cirujanos, oncólogos, radiólogos, patólogos y hepatólogos.

2.4.2 Tratamiento quirúrgico

Todas las resecciones hepáticas se han realizado con intención curativa para conseguir una resección R0, preservando la mayor cantidad de parénquima hepático posible. Se ha considerado como hepatectomía mayor a aquella que implique la resección de tres o más segmentos hepáticos. Se han considerado como metástasis hepáticas sincrónicas a aquellas diagnosticadas con anterioridad o en los primeros seis meses tras el diagnóstico del cáncer colo-rectal y, metástasis metacrónicas a aquellas diagnosticadas a partir de los seis meses siguientes tras la resección del tumor primario.

No se ha realizado la linfadenectomía del pedículo hepático de forma rutinaria, únicamente en aquellos pacientes en los que existía la sospecha de infiltración neoplásica. En todos los casos se ha realizado una exploración manual de la cavidad abdominal y de la superficie hepática además de una ecografía hepática intraoperatoria previa al inicio de la sección del parénquima hepático, para descartar enfermedad hepática o extrahepática irresecable no detectada por las pruebas de imagen preoperatorias. En el caso de tratarse de una enfermedad metastásica múltiple, bilateral en la que no es posible la resección en un solo tiempo quirúrgico ni tan siquiera con la combinación de técnicas de destrucción local (radiofrecuencia, crioterapia), se ha propuesto la realización de una hepatectomía en dos tiempos. Ante la sospecha de enfermedad neoplásica extrahepática intra-abdominal, se realizó una biopsia intraoperatoria para confirmar el diagnóstico de malignidad; en el caso de que ésta fuese positiva, únicamente se ha completado la cirugía si fue posible la extirpación de toda la enfermedad hepática y extrahepática. En el caso de que exista enfermedad extrahepática extra-abdominal concomitante (metástasis pulmonares), se ha extirpado a los

2 o 3 meses tras la hepatectomía con la administración de quimioterapia en el periodo de tiempo intermedio para prevenir la progresión de la enfermedad. Se ha definido la recurrencia precoz como aquella que se produce en los primeros seis meses tras la resección de la metástasis hepática, de acuerdo a los trabajos publicados por Adam R et al. La recidiva hepática de la enfermedad se trató con quimioterapia, o con quimioterapia y una re-hepatectomía en aquellos pacientes en los que la enfermedad era resecable.

La resecabilidad de las metástasis hepáticas es un hecho que está determinado por la convergencia de dos factores: en primer lugar, la posibilidad de que se pueda realizar una resección oncológica completa y por lo tanto sin enfermedad hepática ni extrahepática residual y, en segundo lugar, que el volumen hepático residual tenga un buen flujo de entrada y salida, un buen drenaje biliar, y que sea capaz de mantener una función metabólica suficiente. En general, se considera necesario mantener un 30% del volumen total del hígado en el caso de que se trate de un parénquima normal. Sólo se ha realizado la resección de la enfermedad hepática en aquellos pacientes en los tras la administración de tratamiento quimioterápico se haya producido al menos una estabilización de la enfermedad.

Se ha empleado para la transección del parénquima hepático el disector ultrasónico CUSA (Cavitron Ultrasonic Surgical Aspirator). La hemostasia se ha realizado con una pinza bipolar irrigada y con clips. Para la sección de pedículos vasculares se ha empleado una endocortadora con tres líneas de grapas (Echelon). En los casos en los que la sección del parénquima hepático fue hemorrágica se realizó un clampaje intermitente del pedículo hepático (maniobra de Pringle). La incisión empleada en las resecciones a cielo abierto ha sido la incisión subcostal bilateral, con ampliación a la línea media en algunos pacientes.

2.4.3 Seguimiento post-operatorio

Los pacientes son revisados tras el alta en nuestra consulta al mes, y a continuación cada 3-6 meses durante los cinco años siguientes. El seguimiento de los pacientes se ha realizado mediante anamnesis, exploración física, determinación de CEA, y TC toraco-abdomino-

pélvico cada 3 meses durante los primeros 3 años y cada 6 meses durante los dos años siguientes. Se ha realizado una RM hepática en aquellos pacientes en los que existía la sospecha por TC de la existencia de una nueva metástasis hepática o, en aquellos pacientes con alergia a los contrastes iodados. La Tomografía de emisión de positrones (PET) se ha empleado en los pacientes para confirmar la sospecha de recidiva de la enfermedad a nivel extrahepático.

2.4.4 Resultados a corto plazo

La mortalidad perioperatoria se ha definido como cualquier muerte que se produce dentro de los noventa días que siguen a la resección hepática o durante la hospitalización. La morbilidad postoperatoria se ha definido como cualquier evento adverso en el post-operatorio que se produce en el mismo periodo de tiempo. Las complicaciones postoperatorias se han dividido en complicaciones hepáticas (hemorragia/hematoma que precisan de re-operación y/o transfusión de hematíes, fístula biliar, ascitis transitoria, colección no infectada, absceso, fiebre e insuficiencia hepática transitoria), y complicaciones generales que ocurren a distancia de la zona quirúrgica (sepsis, neumonía, bronquitis, atelectasia, insuficiencia respiratoria, derrame pleural que precisa de punción o drenaje, infección de tracto urinario, y otras complicaciones cardiovasculares y renales). Se ha empleado la definición del "International Study Group o Liver Surgery" para el diagnóstico de fístula biliar. La severidad de las complicaciones postoperatorias ha sido graduada retrospectivamente de acuerdo a la clasificación de Dindo-Clavien.²

2.4.5 Estudio anatómo-patológico

Las piezas quirúrgicas se han estudiado macroscópicamente y microscópicamente para determinar las características del tumor (tamaño, número de lesiones metastásicas, morfología, invasión vascular, afectación tumoral del margen de resección). Para el análisis microscópico, las piezas se han fijado en formaldehído al 10%, se han realizado los cortes de sección a 5 μ , y se han teñido con Hematoxilina-Eosina. El margen se ha definido como la distancia mínima en

milímetros entre el borde de resección y el tumor y se ha considerado un margen positivo, es decir, una resección con un margen patológico R1 cuando la distancia entre el margen de resección y la lesión es inferior a 1 mm.

Se ha realizado el estudio inmunohistoquímico del frente de invasión tumoral en el tumor primario y las metástasis hepáticas para valorar la expresión de las siguientes proteínas: Vimentina, E-cadherina, N-cadherina, CDX2, CD44 y, MUC2.

Se realizaron secciones de 4 μ m que se montaron en portas pretratados FLEX IHC (Dako-Agilent, Glostrup, Denmark) y se secaron en una estufa a 60°C durante 4 h. Las secciones se desparafinaron, hidrataron e incubaron en solución de recuperación antigénica EnVision FLEX (pH alto) en un PT-Link (Dako-Agilent) durante 20 min a 95°C. Posteriormente se atemperaron en el PT-Link a 65°C y se pasaron a tampón de lavado (Dako-Agilent) durante 5 min a temperatura ambiente.

La técnica inmunohistoquímica se realizó de forma automática en un inmunoteñidor AutostainerLink 48 (Dako-Agilent). El protocolo de inmunotinción incluyó las siguientes etapas de incubación:

1. Reactivo de bloqueo de peroxidasa (Dako-Agilent) durante 5 min.
2. Anticuerpos monoclonales de ratón FLEX prediluidos (Dako-Agilent) anti: Vimentina (clon V9), Cadherina-E (clon NCH38), Cadherina-N (clon 6G11), CDX2 (clon DAK-CDX2) y MUC2 (clon CCP58). El anticuerpo anti-CD44 (clon DF1485, Dako-Agilent) se empleó a una dilución de 1:25. Todos los anticuerpos se incubaron durante 20 min, excepto CDX2 que se incubó 30 min.
3. Polímero de dextrano conjugado con peroxidasa de rábano e inmunoglobulinas de cabra anti-ratón y anti-conejo durante 20 min.
4. Solución de trabajo de tetrahidrocloreto de 3,3'-diaminobenzidina con peróxido de hidrógeno (Dako-Agilent) durante 10 min.

5. Contratinción con hematoxilina EnVision FLEX (Dako-Agilent) durante 15 min.

Entre las distintas etapas se realizaron lavados con tampón (Dako-Agilent) y tras la última, las secciones se lavaron de nuevo en tampón durante 5 min, para posteriormente proceder a su deshidratación, aclaramiento y montaje.

Los controles negativos de la técnica se llevaron a cabo sustituyendo el anticuerpo primario por tampón de dilución (Dako-Agilent). En todos los controles negativos no se obtuvo inmunotinción. Los cortes se observaron y fotografiaron en un microscopio Olympus BX51 (Olympus, Tokyo, Japón) equipado con una cámara digital DP70 (Olympus).

2.4.5.1 E-Cadherina, N-Cadherina

La adhesión intercelular y entre las células y la matriz extracelular es primordial en la dinámica de los procesos morfogénéticos que ocurren durante el desarrollo embrionario y en el mantenimiento de la integridad de los tejidos en los organismos adultos. Las moléculas encargadas de estas funciones están divididas en cuatro familias proteicas: cadherinas, integrinas y, selectinas. Las cadherinas son una superfamilia de glucoproteínas transmembrana que intervienen en la adhesión celular a través de interacciones homofílicas entre sus dominios extracelulares. Se dividen a su vez en cinco subfamilias que comprenden: las cadherinas clásicas o de tipo I, las atípicas o de tipo II, las desmocolinas, las desmogleínas y las protocadherinas. Las cadherinas clásicas incluyen a E-cadherina y N-cadherina, llamadas así por el tejido en dónde fueron identificadas: epitelial y neuronal respectivamente, lo cual no indica que sean exclusivas del mismo. De hecho, se identificó inicialmente a N-cadherina como una molécula de adhesión celular expresada en tejido neuronal, pero se ha observado su expresión en varios tejidos no neuronales, como son el músculo cardíaco, los testículos, el riñón y el hígado. La estructura básica de las cadherinas clásicas consiste en un dominio extracelular de casi 550 aminoácidos, seguida por una región transmembrana y un dominio citoplasmático. Sus funciones son múltiples: adhesión, identificación y señalización celular; las dos primeras son llevadas a cabo por el

dominio extracelular, mientras que la última es realizada por el dominio citoplasmático, estas funciones en conjunto son necesarias para la regulación de la apoptosis, para el mantenimiento de la morfología de los tejidos, para la diferenciación, para la motilidad celular, y para el establecimiento de la polaridad celular. La adhesión intercelular epitelial es posible gracias a tres tipos de uniones: estrechas (tight junctions), adherentes (adherence junctions) y de brecha (gap junctions). Las dos primeras están involucradas en la resistencia y polaridad celular y, en la inhibición de la proliferación celular durante la formación de tumores, mientras que las uniones de brecha son fundamentales en el intercambio metabólico del transporte de pequeñas moléculas entre las células. Las uniones adherentes se encargan de la adhesión celular, de la regulación del citoesqueleto, de la señalización intracelular y de la regulación de la transcripción[158].

Durante el desarrollo embrionario se presentan cambios espacio-temporales en la expresión de cadherinas, relacionados con la organización durante la segmentación y el reordenamiento celular. El establecimiento de las distintas superficies tisulares durante la embriogénesis es atribuido al reconocimiento específico entre las células adyacentes; la formación de estas uniones se debe a que las cadherinas de una célula sólo se adhieren a otras cadherinas idénticas de la célula adyacente, lo cual tiene una gran importancia en la formación y mantenimiento de la gastrulación, neurulación y organogénesis. La expresión y función de la E-cadherina es esencial para la implantación del embrión en el endometrio y en la inducción y mantenimiento de la polarización y diferenciación epitelial durante todo el desarrollo embrionario; mientras que la N-cadherina es necesaria para la compactación de las células durante la formación de somitas y del tejido cardíaco.

La E-cadherina, por lo tanto, es una molécula de adhesión celular transmembrana que desempeña una función importante en la conservación de la citoarquitectura de los tejidos epiteliales, participando en las uniones intercelulares y en la señalización intracelular; para ello, β -catenina se une al dominio intracelular de la E-cadherina y a la actina del citoesqueleto, el complejo formado es responsable de la estabilidad celular. La disminución de los niveles de

expresión de E-cadherina en células epiteliales es responsable de la pérdida de su fenotipo epitelial, adquiriendo un fenotipo mesenquimal y por lo tanto, capacidad invasiva; proceso conocido como transición epitelio-mesenquima, donde las células epiteliales activadas escapan al sistema de regulación de la adhesión intercelular, pierden su polaridad, adquieren un fenotipo mesenquimal con una reducción de las interacciones intercelulares y un incremento de la capacidad de migración, relacionándose este hecho con la progresión tumoral, con el desarrollo de metástasis y con la resistencia a los fármacos quimioterápicos[136].

2.4.5.2 Vimentina

La Vimentina es un filamento intermedio tipo III de 57 KD, responsable de la arquitectura del citoplasma. Está presente prácticamente en todas las células embrionarias y en la mayoría de células adultas, sea cual sea su estirpe. Durante la embriogénesis, este filamento es reemplazado progresivamente por filamentos intermedios específicos para cada línea celular, pero se mantiene en las células mesenquimales.

La Vimentina es una herramienta diagnóstica de valor limitado, sin embargo, cuando se emplea en combinación con otros anticuerpos es útil para la subclasificación de un tumor. La expresión de Vimentina con la queratina, ayuda a distinguir melanomas de carcinomas indiferenciados y de linfomas de células grandes. De hecho, todos los melanomas y Schwannomas reaccionan fuertemente con Vimentina.

En la piel normal este marcador se expresa en melanocitos de la unión dermo-epidérmica, en fibroblastos, en dendrocitos, en vasos sanguíneos y linfáticos, en el músculo liso de la dermis y en los adipocitos de la hipodermis. En oncología, la expresión de vimentina se ha demostrado en todo tipo de sarcomas, melanomas, carcinomas fusocelulares y en algunos no fusocelulares. Además, también son vimentina positivos la mayoría de mesoteliomas y gliomas. En dermatopatología resulta útil para demostrar diferenciación mesenquimal o para apoyar el diagnóstico de diferenciación melanocítica en melanomas amelanocíticos pobremente diferenciados. Esta expresión tan ubicua de la vimentina ha determinado que cada vez

tenga menos valor diagnóstico por su escasa especificidad. Sin embargo, teniendo en cuenta su alta sensibilidad, algunos autores defienden la utilidad de la vimentina para establecer la idoneidad de un determinado tejido para su estudio con otros marcadores inmunohistoquímicos, ya que la positividad para la vimentina indica que los antígenos presentes en el tejido están bien conservados[159].

Además de las funciones intracelulares de la Vimentina, el reclutamiento de la vimentina a la superficie celular se relaciona con la adhesión, migración y señalización celular. Dicho reclutamiento se ha demostrado también en enfermedades autoinmunes, infecciones virales y situaciones de progresión tumoral. La expresión de Vimentina en la superficie celular de macrófagos activados, plaquetas y linfocitos T, evidencia su participación en los mecanismos de apoptosis y su asociación con enfermedades inflamatorias. La vimentina tiene la capacidad de translocación del espacio intracelular al extracelular en las células de la zona de transición epitelio mesénquima lo que permite la detección e identificación de su expresión celular en las células tumorales con una gran especificidad. En la actualidad se está explorando la posibilidad de un tratamiento dirigido a dichas células tumorales y para que induzca su apoptosis[134, 159].

La vimentina es responsable del mantenimiento de la forma celular, de la integridad del citoplasma, de la estabilización del citoesqueleto, de la señalización celular y, de la migración y adhesión celular. La vimentina interviene en la reorganización del citoesqueleto para el mantenimiento de la zona de transición epitelio mesénquima, de hecho, una pérdida de vimentina induce la reorganización del citoesqueleto, reduciendo las adhesiones focales celulares, y provocando una disminución de la rigidez y de la fuerza contráctil[141, 160].

2.4.5.3 CD44

La familia de las glucoproteínas CD44 existe en un número de isoformas variables. La más común es la 85-95kD estándar o la variante hematopoyética (CD44), que se encuentra en las células mesodérmicas como son las células hematopoyéticas, los fibroblastos, las células gliales, y en algunas líneas celulares de carcinomas. Se han descrito isoformas de pesos moleculares mayores en células epiteliales (CD44v)

y se considera que actúan en la adhesión intercelular y en la unión estromal. CD44 y sus diferentes isoformas están constituidas por un dominio extracelular para la unión al ácido hialurónico, un dominio transmembrana y, un dominio citoplasmático. La región citoplasmática de CD44 está constituida por 72 aminoácidos, y se asocia con los filamentos de actina mediante la unión a las proteínas ERM (ezrina /radixina/ moesina)[139, 161].

Mientras que las demás funciones de la familia CD44 no se han descubierto aún por completo, se sabe que participan en el desarrollo embrionario, en la angiogénesis, en procesos moleculares relacionados con la adhesión celular, transducción de señales y migración celular. La demostración reciente de la concordancia del antígeno nuclear de proliferación celular Ki-67, y la expresión del CD44 en los pólipos adenomatosos, y en los carcinomas de colon la relaciona con la estimulación del crecimiento celular. La interacción del CD44 y el ácido hialurónico es fundamental para la capacidad de invasión del tumor. El ácido hialurónico es un glucosaminoglucano fundamental en la matriz extracelular de los vertebrados. El CD44 ha sido el primer receptor transmembrana del ácido hialurónico que se ha identificado, y su interés reside en el hecho de que la interacción CD44-hialurónico está implicada en multitud de procesos fisiopatológicos relacionados con la migración celular: desarrollo de metástasis tumorales, cicatrización tisular y, extravasación leucocitaria durante la inflamación de tejidos[131].

CD44 es una molécula de adhesión celular, a día de hoy se considerada como un marcador de las células tumorales en los tumores sólidos. Probablemente contribuya a la activación y a la modulación de los genes que regulan las células madre.

2.4.5.4 CDX2

El CDX2 es un factor de transcripción específico intestinal, que se expresa de forma temprana en el desarrollo intestinal y puede participar en la regulación de la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal. Se expresa en el núcleo de células epiteliales intestinales. CDX2 actúa como un factor de transcripción que se expresa durante la embriogénesis en el desarrollo del intestino delgado y del

colon. También está implicado en la proliferación, en la diferenciación y en la apoptosis celular. El patrón de expresión de CDX2 se altera durante la carcinogénesis, porque en realidad CDX2 funciona como supresor tumoral porque inhibe la vía Wnt mediante la reducción de la tirosín fosforilación de la β -catenina produciendo una disminución de la proliferación celular (la vía Wnt se inhibe mediante una infraexpresión de WNT5 y FZD3, y con una hiperexpresión de SFRP2; la hiperexpresión de CCND1 se acompaña de un incremento de la expresión del gen pro-apoptoico GADD45A y una elevación del gen supresor de tumores CDKN2B), una inhibición de alguno de esos genes provocaría una alteración del equilibrio mitosis apoptosis y un crecimiento celular incontrolado. Además, CDX2 regula la expresión de E-cadherina en la superficie celular. Su expresión constituye un estímulo clave para que se produzca la diferenciación de la célula intestinal normal y mantenga este fenotipo durante toda su vida. Por ello, la adquisición de un fenotipo intestinal por parte de una célula epitelial de otro tipo, es decir, lo que se conoce como metaplasia intestinal, depende de la expresión de que juega un papel esencial en dicho proceso, dado que activaría en el núcleo celular una serie de genes, entre los que destaca el de la cadherina, dando lugar, como resultado, a las características morfológicas y funcionales propias de dicho tipo epitelial[138, 144, 162].

CDX2, resulta de particular interés porque el intestino es el único órgano que contiene niveles detectables. CDX2 se expresa principalmente en la superficie de la vellosidad y en las criptas, excepto las partes distales del intestino en desarrollo.

La expresión de CDX2 se mantiene en la mayor parte de adenomas y adenocarcinomas originados en el epitelio intestinal, con la excepción de aquellos tumores muy poco diferenciados. Se ha descrito positividad para CDX2 en más del 80% de los adenocarcinomas del colon, y hasta en un 70% de los adenocarcinomas gástricos de tipo intestinal. Por lo tanto, CDX2 es un marcador muy sensible y específico de un origen intestinal, o gástrico, en el contexto de un adenocarcinoma.

2.4.5.5 MUC-2

La mucina es una glucoproteína de alto peso molecular que expresan los tejidos epiteliales. Tiene un dominio con alto contenido de residuos de treonina y serina. Estos residuos de aminoácidos son sitios potenciales de glucosilación para la adhesión de las cadenas glucano que constituyen hasta el 80% del peso molecular de la glucoproteína de mucina final, teniendo por lo tanto un alto contenido en oligosacáridos. Se han identificado al menos 14 genes que codifican las proteínas de mucina. Se las denomina MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC9, MUC11, MUC12, MUC13 y MUC16. Se dividen en dos familias; mucinas secretoras, compuestas por MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC19, y mucinas ligadas a membranas, formadas por MUC1, MUC3A/B, MUC4, MUC12, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17, MUC20 y MUC21. Las mucinas secretoras participan en la formación de mucosa y actúan como barrera fisiológica frente a la aparición de lesiones en los epitelios subyacentes, mientras que las mucinas ligadas a membranas, expresadas en membranas epiteliales, desempeñan un papel importante en las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular, así como en la transducción de señales. En tejidos normales, MUC2 se expresa en el intestino delgado, en el colon, en los bronquios y en las glándulas salivares. Se ha observado la expresión de MUC2 en tumores del tracto gastrointestinal de origen colónico, gástrico y esofágico. La expresión de MUC2 se encuentra también en la metaplasia intestinal en el esófago (metaplasia de Barrett), donde MUC2 se expresa en las células de Goblet[163, 164].

El objetivo que se pretende es determinar si existe una zona de transición epitelio-mesénquima con pérdida de la diferenciación celular y de las uniones intercelulares, y valorar si ello influye en la supervivencia total y libre de enfermedad en el grupo de pacientes estudiados.

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las características de los pacientes y los hallazgos anátomo-patológicos de los tumores se han expresado en valores absolutos, media y

desviación estándar. La duración del seguimiento y de la supervivencia se ha expresado con el valor de la media y rango. Las variables cuantitativas se han expresado con el valor de la media y se han comparado con el test de la t de student, las variables categóricas se han expresado con la frecuencia y el porcentaje, y su comparación se ha realizado con el test χ^2 . La supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad a los tres y a los cinco años tras la resección de las metástasis hepáticas se han estimado mediante las curvas de Kaplan-Meier y para analizar el efecto de las diferentes co-variables clínicas y anatómo-patológicas se han comparado con la regresión de Cox. Mediante un análisis multivariante (modelo de regresión logística Cox) en el que se han incluido todos los factores que potencialmente podrían influir en el riesgo de recurrencia ($p < 0.05$ en el análisis univariante) y asumiendo una $p < 0,05$ como estadísticamente significativa, se han obtenido los diferentes factores independientes que influyen en la recurrencia, en la supervivencia global y, en la supervivencia libre de enfermedad. La supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad se han censurado en el momento del fallecimiento del paciente vs recidiva o en la fecha de la última visita en Diciembre del 2018 en el caso de no haberse producido ni la muerte del paciente ni la recidiva de la enfermedad, con el objetivo de tener un mínimo de un seguimiento de cinco años para cada paciente. Se ha empleado para la realización del análisis estadístico el programa IBM SPSS Statistics for Windows (Versión 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) y se ha asumido un nivel de significación estadístico de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Se han operado entre Enero del año 2005 y Diciembre del año 2010, 114 pacientes con metástasis de origen colo-rectal con intención curativa, se han seleccionado para este estudio a los pacientes con las siguientes características: haber sido operado del tumor primario y de la metástasis en nuestro centro, que se conserve en el banco de tumores el cilindro del tumor para su estudio y, que el seguimiento post-operatorio se haya realizado en la consultas de nuestro centro. El número total de pacientes seleccionados ha sido de cincuenta y seis. Las características de los pacientes y de la enfermedad metastásica se resumen en la Tabla 1. 36 pacientes (65,3%) fueron hombres y 20 pacientes (35,7%) fueron mujeres. La edad media fue de 62,7 años (rango 35-82 años). El colon fue la localización del tumor primario en la mayor parte de los pacientes (30 pacientes, 53,7 %), frente a 26 pacientes (en el 46,3%) con un tumor primario de localización rectal. La neoplasia colo-rectal se extirpó de forma urgente en relación a una complicación (obstrucción, perforación) en 6 pacientes (10,7%). Se realizó una resección R0 de la neoplasia colo-rectal (ausencia de tumoración residual microscópica tras la extirpación de la neoplasia) en 50 pacientes (89,3%). La mayor parte de las neoplasias colo-rectales fueron T3 (42 pacientes, 75%) y N1, el resto se distribuyeron de la siguiente manera: T1 (3 pacientes, 5,4%), T2 (4 pacientes, 7,1%), T4 (7 pacientes, 12,5%); N0 (21 pacientes, 37,5%), N2 (12 pacientes, 21,4%), N3 (2 pacientes, 3,6%). El tamaño medio de los tumores colo-rectales extirpados ha sido de 39,3mm (DS 17,7mm). El número medio de adenopatías metastásicas fue de 2,69 (DS 3,83). En el estudio anatómopatológico de dichas piezas quirúrgicas se ha observado que el grado de diferenciación tumoral fue el siguiente: adenocarcinoma pobremente diferenciado 8 pacientes (14,2%), adenocarcinoma moderadamente diferenciado 31 pacientes (55,4%), adenocarcinoma bien diferenciado 11 pacientes (30,4%).

El debut de la enfermedad metastásica hepática fue sincrónico en 36 pacientes (64,3%) y metacrónico en 20 pacientes (35,7%). Las metástasis hepáticas se localizaron en un solo lóbulo hepático en 33 pacientes (58,9%) y tuvieron una localización bilateral en 23 pacientes

(41,1%). 9 pacientes (16%) desarrollaron metástasis pulmonares en algún momento de la evolución de su enfermedad y fueron sometidos a una resección pulmonar. Se realizó RM hepática pre-hepatectomía en 32 pacientes (57,14%).

Los niveles de CEA pre-hepatectomía fueron inferiores a 50 ng/mL en 47 pacientes (83,9%) e iguales o superiores a 50 ng/mL en 9 pacientes (11,1%). El valor de CEA prehepatectomía fue de 27,27ng/mL (DS 41,99ng/mL) En 34 pacientes la enfermedad metastásica se manifestó en forma de una única lesión hepática (60,7%). El número medio de lesiones hepáticas fue de 2,089 (DS 1,55). En 9 pacientes (16,1%) hubo dos lesiones hepáticas, y en 13 pacientes (23,2%) hubo 3 o más lesiones hepáticas. El tamaño medio de la metástasis de mayor tamaño en cada paciente fue de 26,71 mm (DS 20,2 mm).



Tabla 1: Características del paciente y de la enfermedad Neoplásica

Edad media	63,9 años (DS 10,3 años)
Sexo	
Hombre	36 (64,3%)
Mujer	20 (35,7%)
Localización del tumor primario	
Colon	30 (53,6%)
Recto	26 (46,4%)
Cirugía del tumor primario urgente	6 (10,7%)
Resección R0 del tumor colo-rectal	50 (89,3%)
Tamaño del tumor primario	39,3mm (DS 17,7mm)
Estadío T	
1	3 (5,4%)
2	4 (7,1%)
3	42 (75%)
4	7 (12,5%)
Estadío N	
0	21 (37,5%)
1	21 (37,5%)
2	12 (21,4%)
3	2 (3,6%)
Nº de ganglios	2,69. (DS 3,83)
Grado de diferenciación del tumor colo-rectal	
Pobrememente diferenciado	8 (14,3%)
Moderadamente diferenciado	31 (55,3%)
Bien diferenciado	17 (30,4%)
Número de metástasis hepáticas	2,089. (DS 1,55)
1	34 (60,7%)
2	9 (16,1%)
≥3	13 (23,2%)
Tamaño medio de la metástasis mayor	26,71 mm (ds 20,2mm)
Distribución de las metástasis	
Unilateral	33 (58,9%)
Bilateral	23 (41,1%)
Metástasis hepáticas sincrónicas	36 (64,3%)
Metástasis hepáticas metacrónicas	20 (35,7%)
Metástasis hepáticas inicialmente resecables	43 (76,8%)
Pacientes con metástasis pulmonares	9 (16%)
Rm prehepatectomía	32 (57,14%)
CEA prehepatectomía (ng/mL)	27,27 (DS 41,99))
CEA prehepatectomía (ng/mL) <50	47 (83,9%)
CEA prehepatectomía (ng/mL) >50	5 (8,9%)

Una vez diagnosticados los pacientes fueron valorados por el equipo multidisciplinar, (constituído por hepatólogos, digestólogos, oncólogos, radiólogos, patólogos, cirujanos colo-rectales y cirujanos hepáticos) y se consideró que en 43 pacientes (76,8%) la enfermedad hepática era potencialmente resecable en ese momento, analizando su tamaño, número y localización.

La resección hepática en 12 pacientes (21,4%) fue una hepatectomía mayor (resección de tres o más segmentos hepáticos, tal y como se ha descrito en el epígrafe de material y métodos). Se han realizado 9 hemi-hepatectomías derechas (16%), 3 hemi-hepatectomías izquierdas (5,3%), 8 seccionectomías laterales izquierdas (14,2%), 20 resecciones hepáticas anatómicas (35,7%) y 36 metastasectomías, es decir, resecciones hepáticas no anatómicas (64,3%). En 9 pacientes (16%) se realizó la resección simultánea del tumor primario colo-rectal y de la enfermedad metastásica hepática, en 47 pacientes (82,3%) se realizó la resección de la enfermedad en dos tiempos, en un paciente (1,7%) se realizó el tratamiento inverso (resección en primer lugar de la enfermedad metastásica y en un segundo tiempo resección de la tumoración rectal). En 9 pacientes se realizó la resección de metástasis pulmonares. Se transfundieron 2 o más concentrados de hematíes durante el periodo perioperatorio (intraoperatorio y post-operatorio hasta el alta) en 18 pacientes (32,1%). El tiempo medio de duración de la intervención quirúrgica fue de 238 minutos (DS 83,9, 60-480 minutos) (Tabla 2).

Tabla 2. Características de la intervención quirúrgica

Tipo de resección hepática	
Anatómica	20 (35,7%)
No anatómica	36 (64,3%)
Hepatectomía mayor	12 (21,4%)
Tipo de hepatectomía	
Hepatectomía derecha	9 (16%)
Hepatectomía izquierda	3 (5,3%)
Seccionectomía lateral izquierda	8 (14,3%)
Metastasectomía	36 (14,3%)
Metastasectomías bilaterales múltiples	33 (41,1%)
Resección en un tiempo de tumor colo-rectal y metástasis hepáticas (SINCRÓNICO)	9 (16%)
Resección en dos tiempos de tumor colo-rectal y metástasis hepáticas (CLÁSICO)	47 (82,3%)
Resección en dos tiempos de metástasis hepática y tumor colo-rectal (INVERSO)	1 (1,7%)
Duración de la intervención (media, DS)	238 minutos (DS 83,9 minutos)
Transfusión de ≥ 2 concentrados hematíes	18 (32,1%)

El estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica (resección hepática) reveló la existencia de un margen libre de enfermedad (superior a 1 mm) y por tanto una resección R0 en 43 pacientes (76,8%). El tamaño medio de la metástasis de mayor tamaño en cada paciente fue de 26mm (DS 20.2 mm). De los 56 pacientes, en 33 de ellos (41,1%) se realizó resección de enfermedad en ambos lóbulos hepáticos. Se observó invasión macrovascular con afectación portal o suprahepática en 2 pacientes (3,6%) (Tabla 3).

Tabla 3. Hallazgos anatomo-patológicos en la resección hepática

Anatomía patológica	
Número de metástasis (media, DS)	2,09 (DS 1,6)
Tamaño máximo (media, DS)	26mm (DS 20,02mm), mediana 110
Margen quirúrgico	
R0	43 (76,8%)
R1	13 (23,2%)
Invasión macrovascular (suprahepática, portal)	2 (36%),

Los resultados del estudio inmunohistoquímico de la zona de transición en el margen tumoral fueron los siguientes: expresión de vimentina en el tumor colo-rectal y metástasis hepática 0. Expresión de E-cadherina en el tumor colo-rectal en 54 pacientes (96,4%) y en la metástasis hepática en 54 pacientes (96,4%). Expresión de N-cadherina en el tumor colo-rectal en 0 pacientes y en la metástasis hepática en 8 pacientes (14,3%). Expresión de CDX2 en el tumor colo-rectal en 48 pacientes (85,7%) y en la metástasis hepática en 22 pacientes (39,3%). Expresión de MUC2 en el tumor colo-rectal en 38 pacientes (67,9%), y en la metástasis hepática en 34 pacientes (60,7%) (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados del análisis inmunohistoquímico de la zona de transición epitelio-mesénquima en el margen tumoral en el tumor primario colo-rectal y en la metástasis hepática

	NEOPLASIA COLO-RECTAL	METÁSTASIS HEPÁTICA
VIMENTINA	0	0
E-CADHERINA	54 (96,4%)	54 (96,4%)
N-CADHERINA	0	8 (14,3%)
CDX2	48 (85,7%)	47 (83,9%)
CD44	20 (25,7%)	22 (39,3%)
MUC2	38 (67,9%)	34 (60,7%)

No se produjo ninguna muerte durante el periodo post-operatorio (noventa días tras la resección hepática). En 12 pacientes hubo complicaciones (21,4%), fue necesario el drenaje percutáneo de una colección abdominal en 6 pacientes (10,7%) y la reintervención quirúrgica en 2 pacientes (3,5%). El porcentaje de fístula biliar fue del 3,6%, en todos los casos fueron fístulas grado A y se trataron de forma conservadora (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados post-operatorios a corto plazo

Mortalidad a 90 días	0
Morbilidad	12 (21,4%)
Dehiscencia de la anastomosis colo-rectal	
Complicaciones hepatectomía	
Oclusión intestinal	1 (1,8%)
Fístula biliar	2 (3,6%)
Ascitis transitoria	2 (3,6%)
Colección abdominal	
Colección abdominal infectada	6 (3,6%)
Insuficiencia hepática transitoria	
Complicaciones sistémicas	
Sepsis	
Neumonía	
Bronquitis	
Atelectasias	1 (1,6%)
Insuficiencia respiratoria	
Infección urinaria	
Relaparotomía	2 (3,6%)
Drenaje percutáneo	6 (10,8%)

Se empleó la clasificación de Dindo-Clavien para categorizar las complicaciones post-operatorias, tal y como se refleja en la Tabla 6.

Tabla 6: Complicaciones según clasificación de Dindo-Clavien

Grado I	1 (1,8%)
Grado II	4 (7,1%)
Grado III	
IIIa	5 (8,9%)
IIIb	2 (3,6%)
Grado IV	
IVa	-
IVb	-
Grado V	-

Han recibido tratamiento quimioterápico neoadyuvante a la cirugía hepática 43 pacientes, es decir, un 76,8% del total de los pacientes incluidos en el estudio (n=56). El número medio de líneas de tratamiento neoadyuvante ha sido de 1,09 (DS 0,48 líneas), el número medio de ciclos de tratamiento recibidos ha sido de 5,24 (DS 3,36 ciclos). En alguna de las líneas de tratamiento neoadyuvante el 65,1% de los pacientes (n=28) han recibido tratamiento con Oxaliplatino, el 34,8% de los pacientes (n=15) han recibido tratamiento con Irinotecam, el 5,3% de los pacientes (n=3) han recibido tratamiento con Bevacizumab y por último, el 17,8% de los pacientes (n=10) han recibido tratamiento con cetuximab. La mayoría de pacientes recibieron una única línea de tratamiento neoadyuvante con quimioterapia (30 pacientes, 69,7%). Los pacientes tratados con una única línea de tratamiento quimioterápico recibieron una media de 4,2 ciclos (DS 1,6). En el caso de los pacientes tratados con dos líneas de quimioterapia (5 pacientes), el número medio de ciclos recibido fue de 7,6 (DS 2,3), por último, en los pacientes tratados con 3 o más líneas de quimioterapia (8 pacientes) el número medio de ciclos recibido fue de 19,5 (DS 6,9). El número medio de ciclos recibidos en la última línea de tratamiento ha sido de 4,16 ciclos (DS 3,05 ciclos). Han recibido en la última línea de tratamiento neoadyuvante oxaliplatino 14 pacientes (32,3%), irinotecan 10 pacientes (23,2%), cetuximab 3 pacientes (6,9%) y bevacizumab 6 pacientes (13,9%). En 3 pacientes se observó una respuesta radiológica completa al tratamiento quimioterápico neoadyuvante (6,9%), en 25 pacientes una respuesta radiológica parcial (58,1%), y en 15 pacientes una estabilización en cuanto al número y tamaño de la metástasis (34,8%). Ninguno de los pacientes incluidos en el estudio tuvo una progresión de la enfermedad con el tratamiento neoadyuvante, porque en ese caso no hubiera estado indicada la resección de la enfermedad metastásica, ni hepática ni extrahepática. Han recibido quimioterapia adyuvante 35 pacientes (58,9%), la media de líneas de tratamiento adyuvante ha sido de 1,69 (DS 1,27), el número medio de ciclos de tratamiento adyuvante recibidos por los pacientes ha sido de 7,52 (DS 6,9); de ellos, 30 recibieron una línea de tratamiento con oxaliplatino (90,9%), y 22 pacientes una línea de tratamiento con irinotecam

(66,6%). Han recibido cetuximab adyuvante 7 pacientes (21,2%), bevacizumab adyuvante 8 pacientes (24,2%) y panitumumab adyuvante 2 pacientes (6%). En el grupo de pacientes con metástasis hepáticas metacrónicas (n=20 pacientes) 16 han recibido quimioterapia adyuvante (80%). (Tabla 7).

Tabla 7. Tratamiento quimioterápico

Quimioterapia neoadyuvante a hepatectomía	43 (76,8%)
Número de líneas de tratamiento neoadyuvante (media, ds)	1,09 (DS 0,48)
Número de ciclos de tratamiento neoadyuvante (media, ds)	5,24 (DS 3,36)
Oxaliplatino neoadyuvante	28 (65,1%)
Irinotecam neoadyuvante	15 (34,8%)
Cetuximab neoadyuvante	3 (6,9%)
Bevacizumab neoadyuvante	10 (23,2%)
<i>Última línea de tratamiento neoadyuvante</i>	
Oxaliplatino en última línea	14 (32,5%)
Irinotecam en última línea	10 (23,2%)
Cetuximab en última línea	3 (6,9%)
Bevacizumab en última línea	6 (13,9%)
Número de ciclos en última línea neoadyuvante (media, ds)	4,16 (DS 3,05)
Respuesta radiológica a quimioterapia neoadyuvante	
Completa	3 (6,9%)
Parcial	25 (58,1%)
Estabilización	15 (34,8%)
Quimioterapia adyuvante a la hepatectomía	35 (58,9%)
Número de líneas de tratamiento adyuvante	1,69 (DS 2,78)
Número de ciclos de tratamiento adyuvante	7,52 (DS 6,9)
Oxaliplatino adyuvante	30 (90,9%)
Irinotecam adyuvante	22 (66,6%)
Cetuximab adyuvante	7 (21,2%)
Bevacizumab adyuvante	8 (24,2%)
Panitumumab adyuvante	2 (6%)

El tiempo medio de seguimiento fue de 70,09 meses (DS 56,15). 44 pacientes (67,9%) fallecieron, la mayoría como consecuencia de la enfermedad neoplásica. Durante el primer año de seguimiento tras la hepatectomía, se produce la recurrencia de la enfermedad en 24 pacientes (42,9%), durante los siguientes dos años en 15 pacientes

(26,7%); y durante los siguientes dos años en 4 pacientes (7,1%). Se ha observado recurrencia temprana hepática (primeros 12 meses tras la hepatectomía) en 6 pacientes (10,7%), recurrencia temprana extrahepática en un paciente (1,8%), recurrencia temprana hepática y extrahepática en 5 pacientes (8,9%), recurrencia tardía hepática (a partir de los doce meses tras la hepatectomía) en 9 pacientes (16%), recurrencia tardía extrahepática en 11 pacientes (19,6%), recurrencia tardía hepática y extrahepática en 12 pacientes (21,4%).

La distribución de los lugares de recurrencia fue la siguiente: sólo intrahepática en 15 pacientes (26,7%), sólo extrahepática en 12 pacientes (21,4%), e intra y extrahepática en 17 pacientes (30,3%). En 7 pacientes se realizó una re-hepatectomía (20%), siendo necesaria una hepatectomía mayor en uno de los pacientes con recidiva de la enfermedad; en los demás pacientes con recidiva de la enfermedad únicamente se les pudo ofrecer tratamiento quimioterápico con intención paliativa o tratamiento para el control de síntomas. La supervivencia global al año, a los tres años y, a los cinco años fue del 97 %, 70% y del 47%. La supervivencia libre de enfermedad media fue de 72,04 meses (DS 56,15 meses). La mediana de supervivencia es de 56 meses. La supervivencia libre de enfermedad al año, a los tres años y, a los cinco años fue del 63%, 43% y del 39%. La supervivencia libre de enfermedad media fue de 47,47 meses (DS 56,28 meses). La mediana de supervivencia libre de enfermedad fue de 56 meses (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados a largo plazo

Tiempo de seguimiento meses (media, DS)	70,09 meses (DS 56,15 meses)
Recurrencia al año	24 (42,9%)
Recurrencia a los 3 años	15 (26,7%)
Recurrencia a los 5 años	4 (7,1%)
Recurrencia temprana	
Hepática	6 (10,7%)
Extrahepática	1 (1,8%)
Ambas	5 (8,9%)
Recurrencia tardía	
Hepática	8 (14,3%)
Extrahepática	10 (17,9%)
Ambas	12 (21,4%)
Número total de re-hepatectomías	7 (12,5%)
Situación actual	
Vivo libre de enfermedad	15 (26,7%)
Vivo con enfermedad	3 (5,3%)
Muerto	38 (67,9%)
Supervivencia global media	72,04 meses (DS 56,15 meses)
Supervivencia libre de enfermedad media	47,4 meses (DS 56,28 meses)
Supervivencia libre de enfermedad (1,2,3 años)	
1 año	63%
3 años	43%
5 años	39%
Supervivencia global al año (1,2,3 años)	
1 año	97%
3 años	70%
5 años	47%

Se han construido curvas de Kaplan Meier, y se ha analizado mediante regresión de COX, las diferencias de supervivencia global y libre de enfermedad en relación a diferentes variables consideradas en este estudio (Figuras 1,2) (Tabla 11).

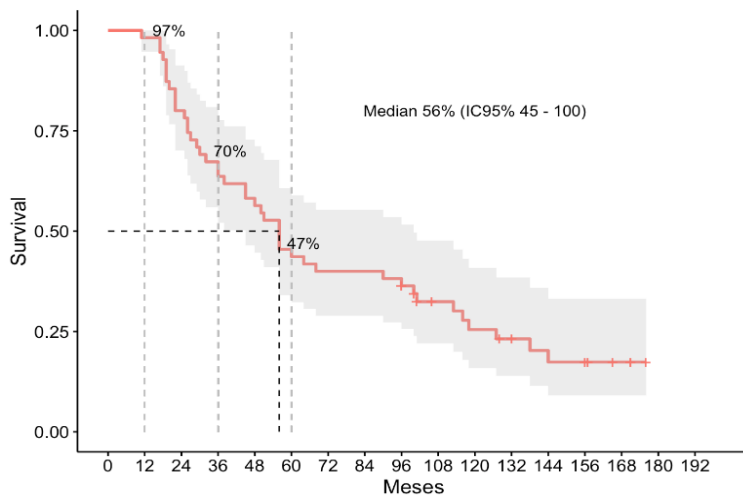


Figura 1: Supervivencia global

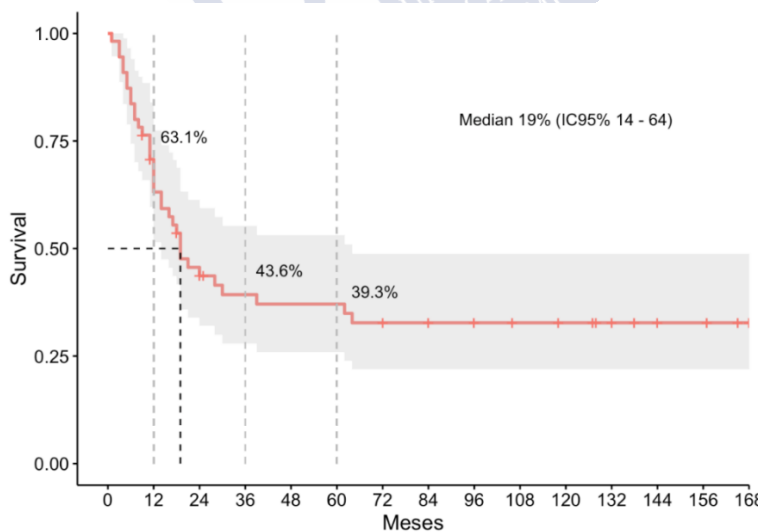


Figura 2: Supervivencia libre de progresión

La supervivencia global ha sido superior pero no significativa, en los pacientes de sexo femenino (mediana de SV 100 meses vs 45 meses; $p=0,15$), (Figura 3) (Tabla 11)

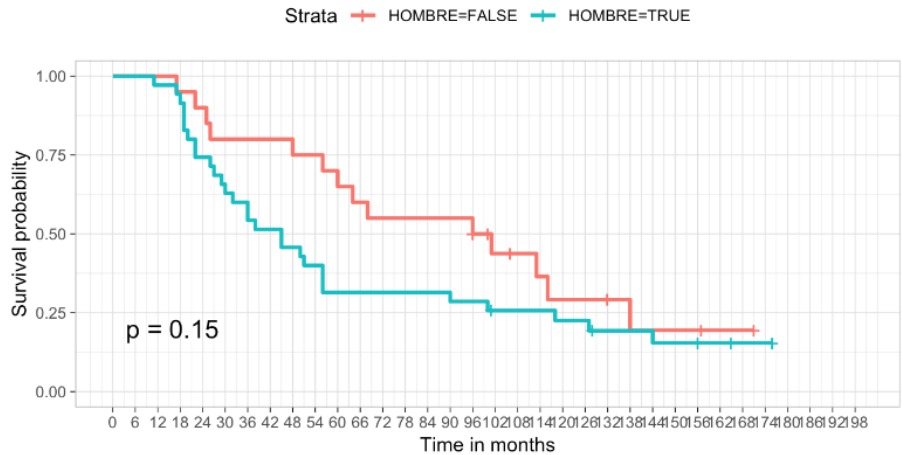


Figura 3: Supervivencia global - Sexo

en el cáncer de colon (mediana de SV 60 meses vs 45 meses en el cáncer de recto; $p=0,12$), (Figura 4) (Tabla 11)

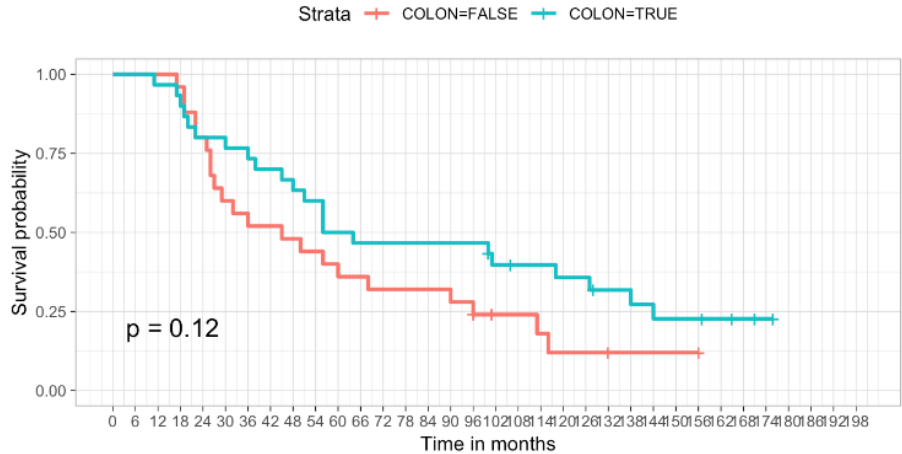


Figura 4: Supervivencia global-Tumor primario en colon

cuando la cirugía se realizó de forma programada (mediana de SV 55 meses vs 387 meses; $p=0,44$), (Figura 5) (Tabla 11)

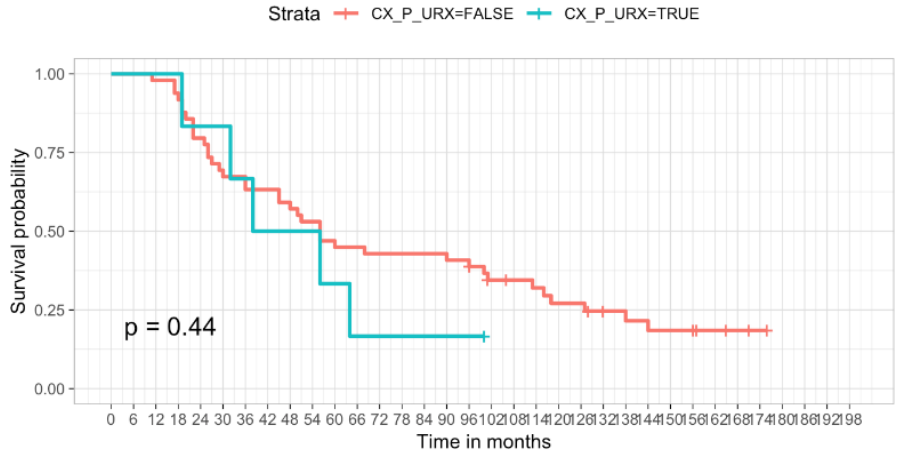


Figura 5: Supervivencia global-Cirugía del tumor primario urgente

en el caso de pacientes con lesiones metastásicas hepáticas de aparición metacrónicas (mediana de SV 98 meses vs 51 meses; $p=0,37$), (Figura 6) (Tabla 11)

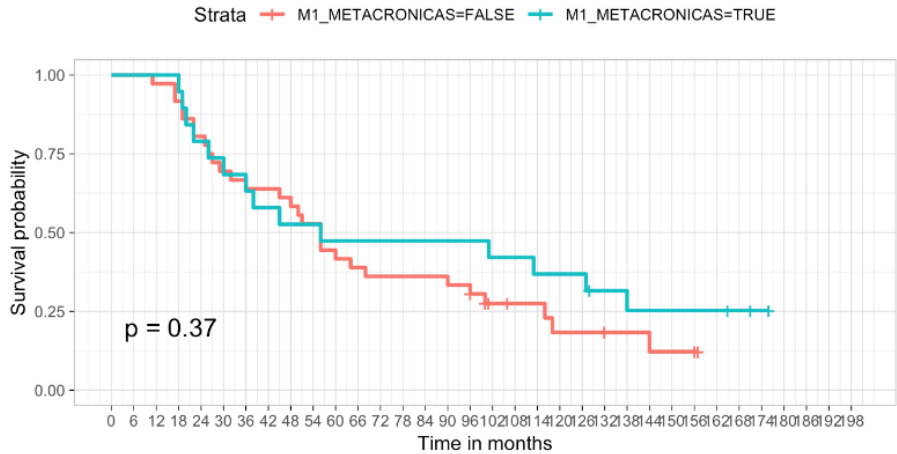


Figura 6: Supervivencia global-Metástasis metacrónicas

en lesiones metastásicas unilobares (mediana de SV 56 meses vs 48 meses; $p=0,35$), (Figura 7) (Tabla 11)

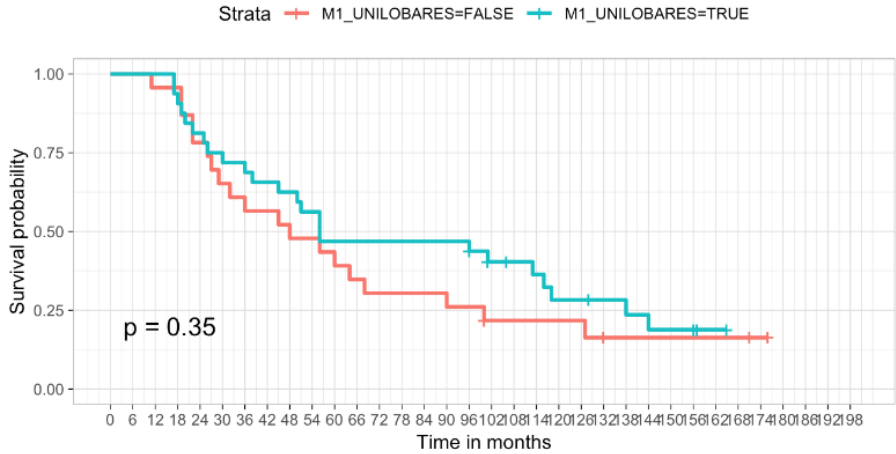


Figura 7: Supervivencia global- Metástasis unilobares

cuando se realizó una cirugía preservadora de parénquima (mediana de SV 56 meses vs 45 meses; $p=0,32$), (Figura 8) (Tabla 11)

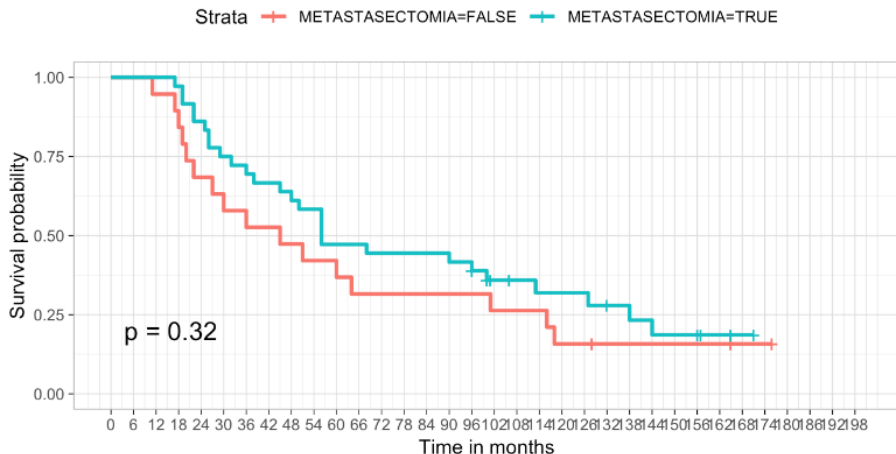


Figura 8: Supervivencia global-Metastasectomía

y en los casos de expresión inmunohistoquímica de CD44 en la zona de transición del margen tumoral en el adenocarcinoma de colon (mediana de SV 60 meses vs 50 meses; $p=0,49$). (Figura 9) (Tabla 11)

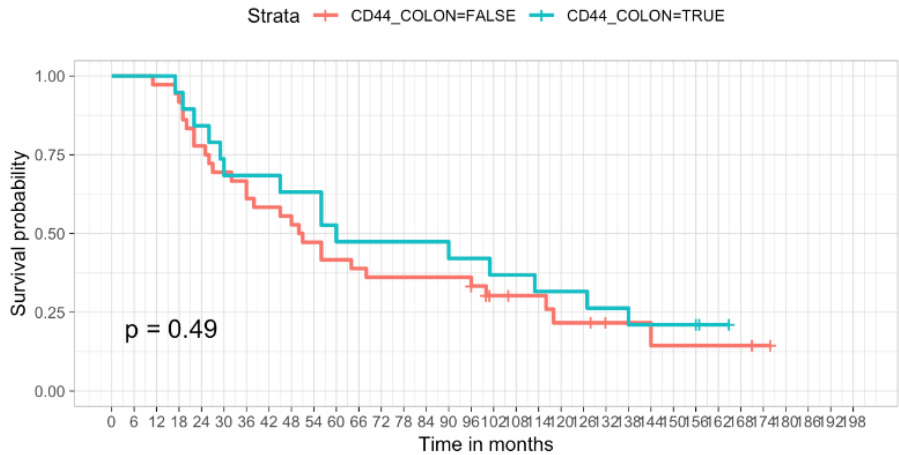
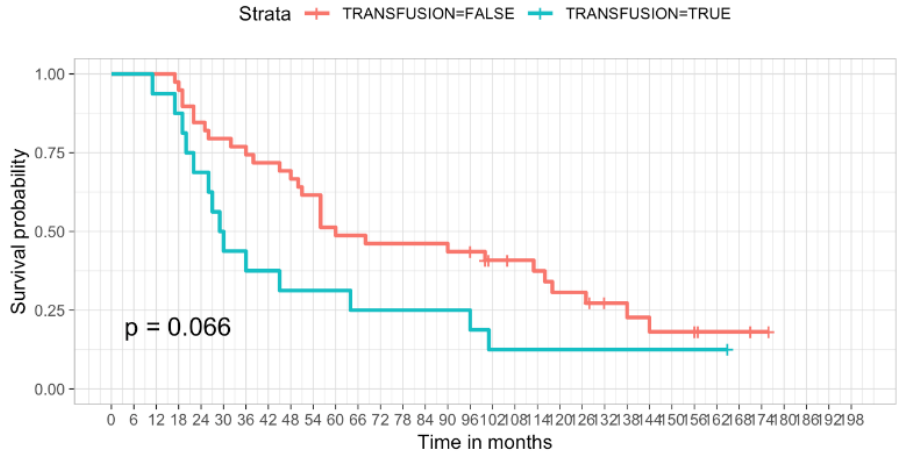


Figura 9: Supervivencia global-CD44 colon

La supervivencia global ha sido inferior pero no significativa, en los pacientes que han recibido una transfusión de hemoderivados perioperatoria (mediana de SV 29 meses vs 60 meses; $p=0,66$), (Figura 10) (Tabla 11)



cuando se ha realizado una resección sincrónica de la enfermedad colónica y hepática (mediana de SV 29 meses vs 62 meses; $p=0,072$) (Figura 11) (Tabla 11)

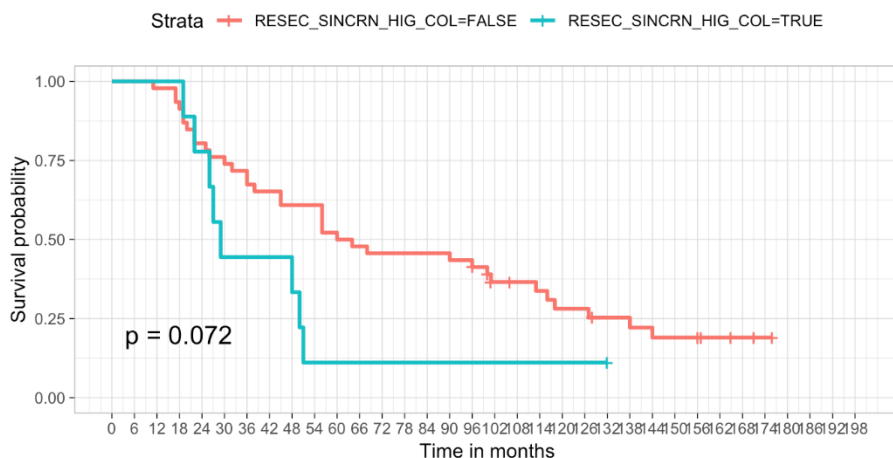


Figura 11: Supervivencia global-Resección sincrónica

y en los pacientes que han recibido quimioterapia neoadyuvante a la hepatectomía (mediana de SV 56 meses vs 116 meses; $p=0,099$). (Figura 12) (Tabla 11)

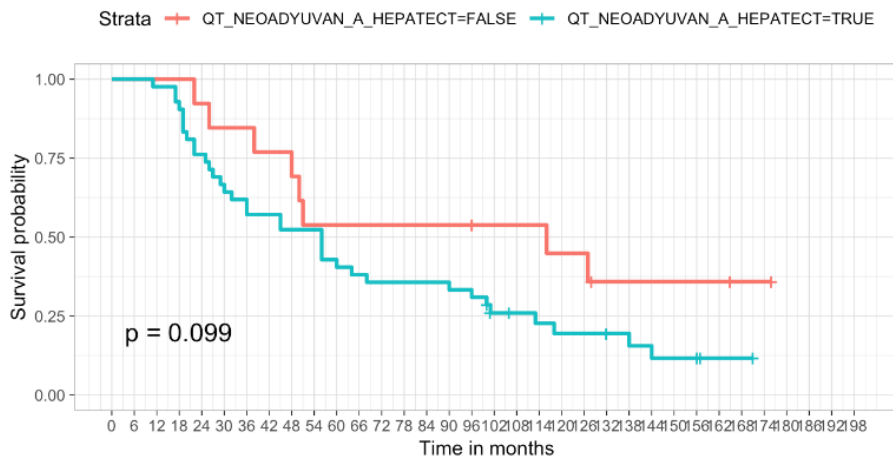


Figura 12: Supervivencia global-QT Neoadyuvante a hepatectomía

No se han observado diferencias en relación a la supervivencia global en los pacientes por grupos de edad; ni entre mayores y menores de 40 años ($p=0,93$), (Figura 13) (Tabla 11)

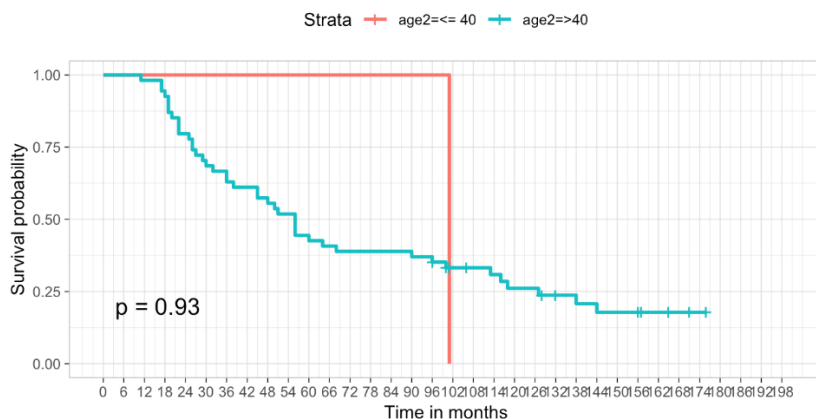


Figura 13: Supervivencia global-edad mayor o menor de 40 años

ni entre mayores y menores de 70 años ($p=0,061$). (Figura 14) (Tabla 11)

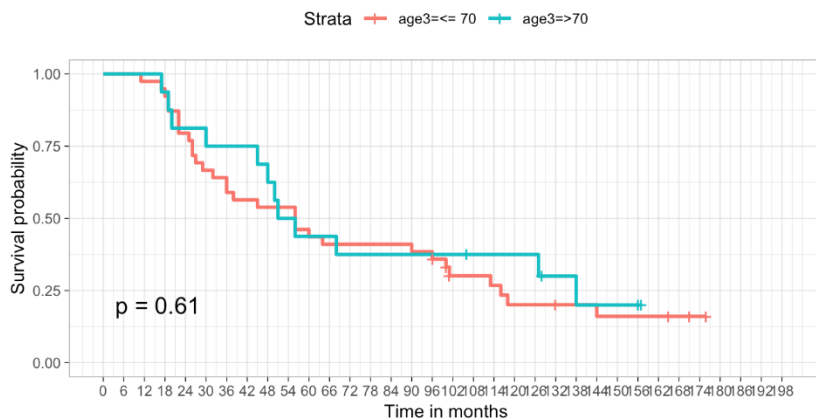


Figura 14: Supervivencia global-edad mayor o menor de 70 años

Se ha podido demostrar una supervivencia significativamente inferior en los pacientes en los que hubo recidiva hepática (HR: 3,558; IC 95%: 1,825-6,938; $p < 0,0001$), (Figura 15) (Tabla 9,11)

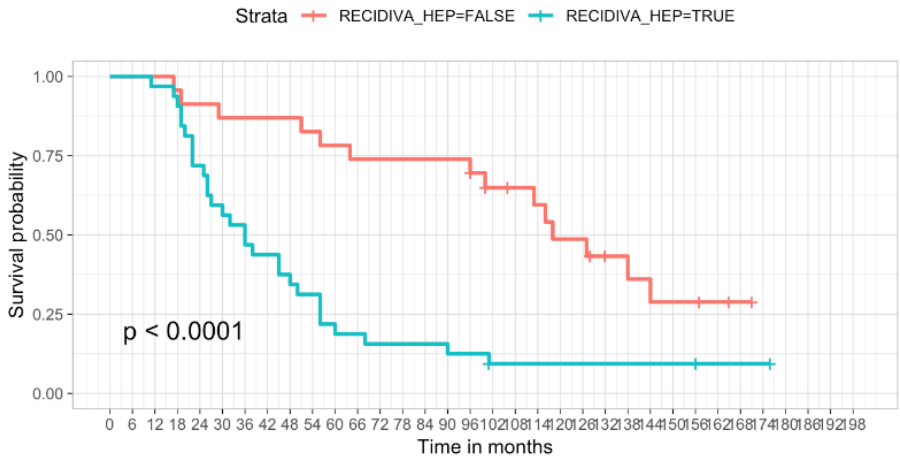


Figura 15: Supervivencia global-Recidiva hepática

recidiva pulmonar (HR: 2,489; IC 95%: 1,327-4,666; $p = 0.0044$), (Figura 16) (Tabla 9,11)

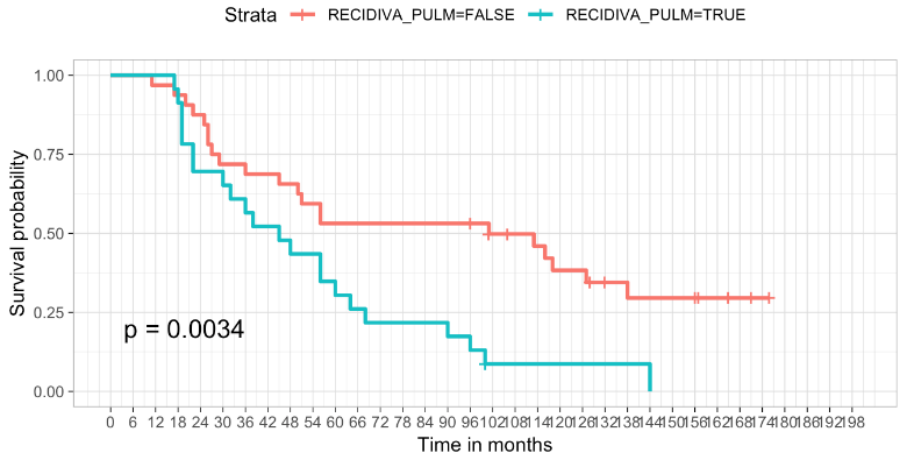


Figura 16: Supervivencia global-Recidiva pulmonar

recidiva peritoneal (HR: 2,16; IC 95%: 1,059-4,408; $p=0,0342$), (Figura 17) (Tabla 9,11)

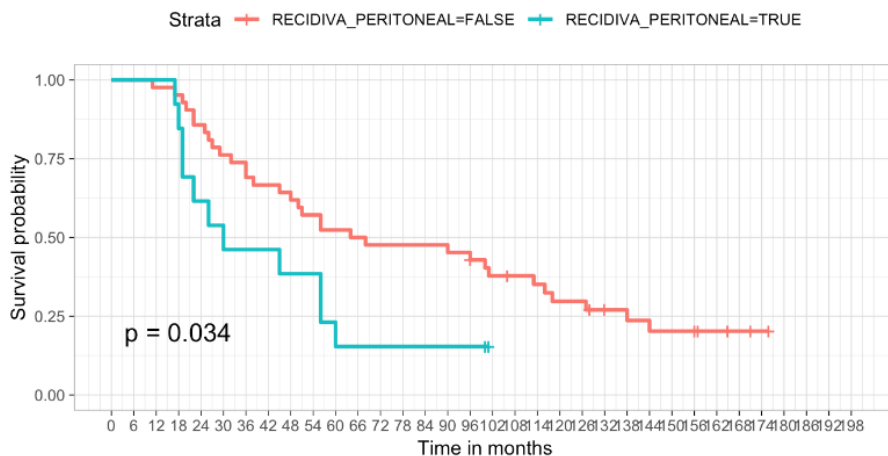


Figura 17: Supervivencia global-Recidiva peritoneal

recurrencia temprana de la enfermedad hepática (HR: 2.641; IC95%: 1,076-6,482; $P<0,034$), (Figura 18) (Tabla 9,11)

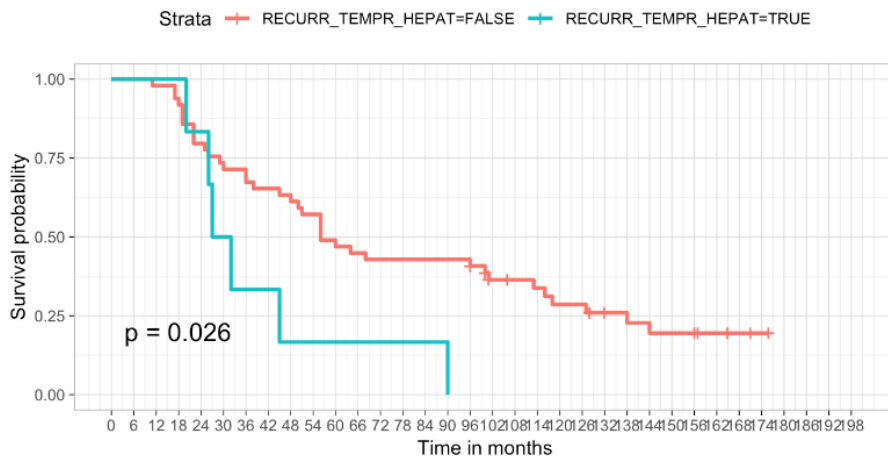


Figura 18: Supervivencia global- Recidiva hepática precoz

recurrencia temprana de la enfermedad hepática y extrahepática (HR: 6,648; IC 95%: 2,283-18,33; $p=0,0004$), (Figura 19) (Tabla 9,11)

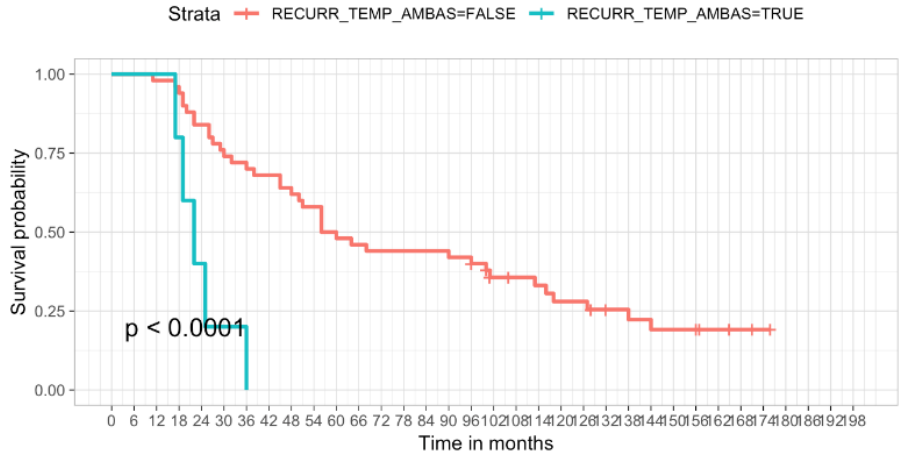


Figura 19: Supervivencia global-Recidiva hepática y extrahepática precoz

recurrencia tardía de la enfermedad hepática y extrahepática (HR: 2,161; IC 95%: 1,063-4,394; $P=0,033$), (Figura 20) (Tabla 9,11)

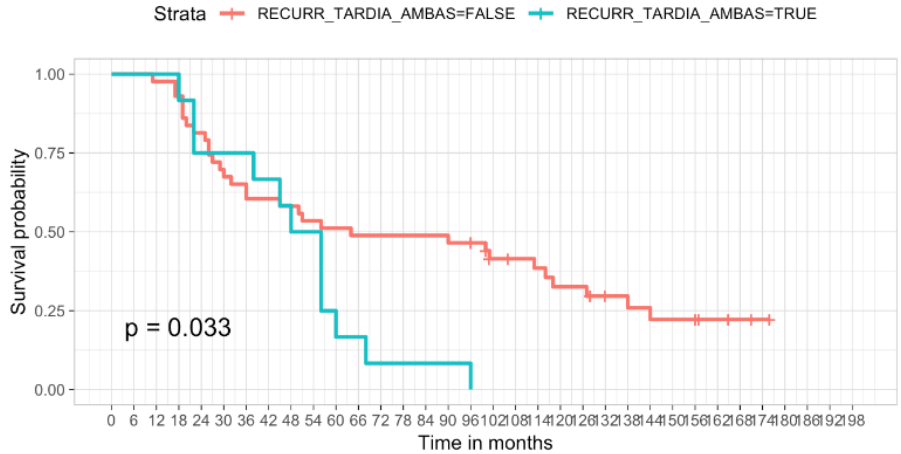


Figura 20: Supervivencia global-Recidiva hepática y extrahepática tardía

y en los pacientes con niveles de CEA pre-hepatectomía más elevados (HR: 1,005; IC 95%: 1,001-1,009; P=0,0203). (Figura 21) (Tabla 9,11)

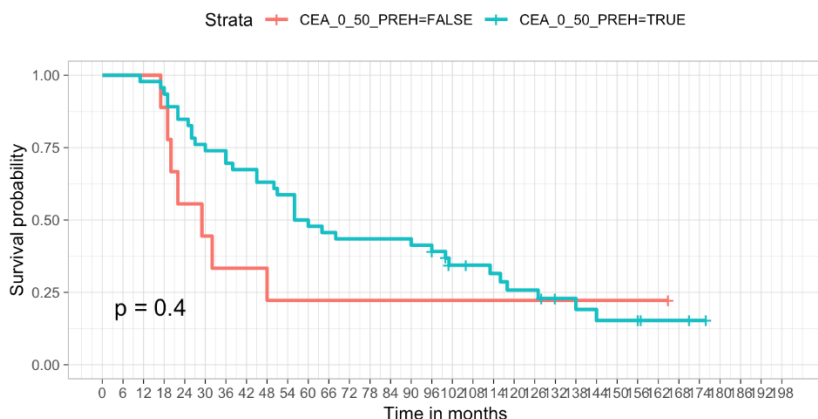


Figura 21: Supervivencia global-CEA

Mediante análisis inmunohistoquímico se ha estudiado la expresión de E-cadherina, N-cadherina, Vimentina, CDX2, CD44 y, MUC2, en la zona de transición epitelio-mesénquima en el margen tumoral en el adenocarcinoma de colon y en la metástasis hepática. Se ha observado una supervivencia global significativamente superior en los pacientes con expresión inmunohistoquímica de CD44 en la metástasis hepática (HR: 0,4668; IC 95%: 0,246-0,8857; p=0,0197), (Tabla 9) (Figura 22)

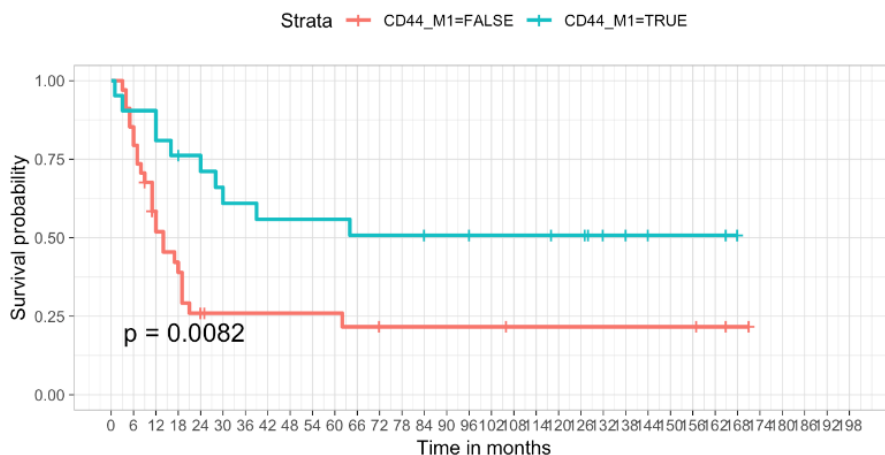


Figura 22: Supervivencia global-CD44 hígado

y con ausencia de expresión de CDX2 en la zona de transición en el tumor primario colo-rectal (HR: 6,017; IC 95%: 1,81-20; $p=0,0034$), (Figura 23) (Tabla 9)

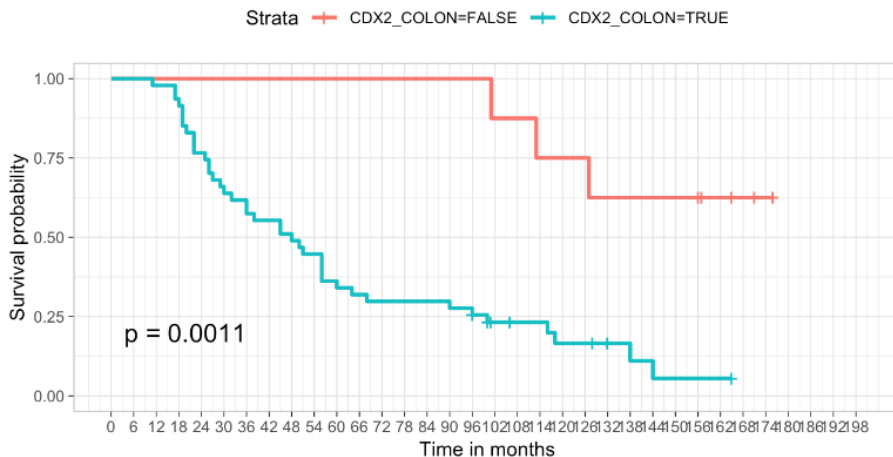


Figura 23: Supervivencia global-CDX2 colon

y de CDX2 en la metástasis hepática (HR: 3,102;IC 95%: 1,204-7,989; p=0,019); (Figura 24) (Tabla 9)

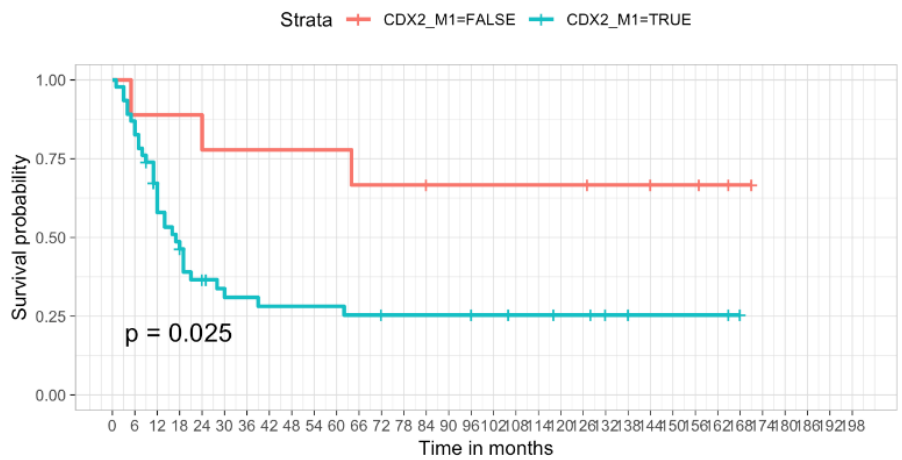


Figura 24: Supervivencia global- CDX2 hígado

y una supervivencia global significativamente inferior en los pacientes con expresión inmunohistoquímica de N-cadherina en la metástasis hepática (HR: 4,871; IC 95%: 2,121-11,19; p=0,0001) (Figura 25) (Tabla 9).

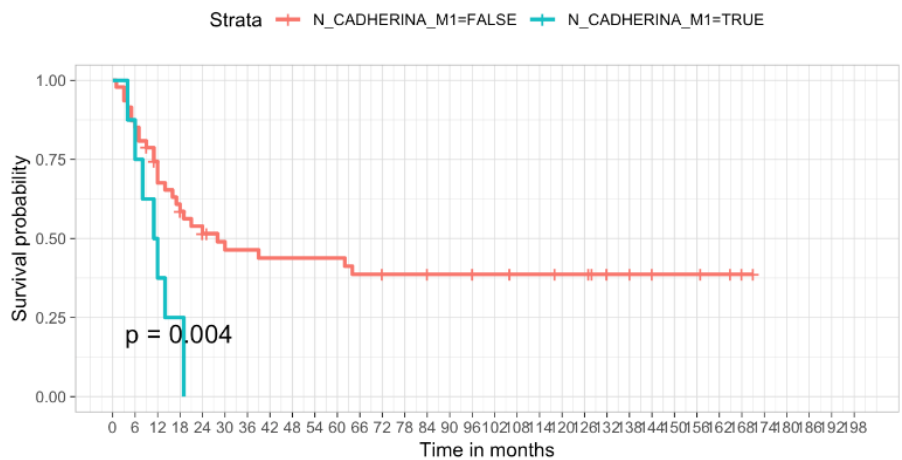


Figura 25: Supervivencia global-N-cadherina hígado

Tabla 9: Regresión de COX. Supervivencia global

	HAZARD RATIO	IC 95%	p
SEXO-MUJER.	1,608	0,8452-3,058	0,148
TUMOR PRIMARIO COLON	0,6169	0,3348-1,136	0,121
CIRUGÍA URGENTE	1,45	0,5619-3,743	0,442
T-COLON-RECTO	0,9754	0,6163-1,544	0,915
N-COLON-RECTO	0,8852	0,6163-1,271	0,509
M1-SINCRÓNICAS	1,345	0,7033-2,573	0,37
M1-METACRÓNICAS	0,7434	0,3886-1,422	0,37
M1-UNILOBARES	0,7531	0,4111-1,38	0,358
M1-MULTILOBARES	1,328	0,7249-2,432	0,358
M1-RESECABLES-DIAGNÓSTICO	0,791	0,3973-1,575	0,504
METÁSTASIS PULMON RESECCIÓN R0	1,09	0,5029-2,362	0,827
METASTASECTOMÍA	0,7368	0,3966-1,369	0,334
RECIDIVA HEPÁTICA	3,558	1,825-6,938	0,00019
RECIDIVA PULMONAR	2,489	1,327-4,666	0,00447
RECIDIVA PERITONEAL	2,16	1,059-4,408	0,0342
RECIDIVA TEMPRANA HEPATICA	2,641	1,076-6,482	0,034
RECURRENCIA TEMPRANA EXTRAHEPÁTICA	2,643	0,3515-19,88	0,345
RECIDIVA TEMPRANA H-E	6,468	2,283-18,33	0,00044
RECIDIVA TARDÍA HEPÁTICA			
RECIDIVA TARDÍA EXTRAHEPÁTICA	0,9429	0,4501-1,975	0,876
RECIDIVA TARDÍA H-E	2,161	1,063-4,394	0,0333
QT NEOADYUVANTE	1,904	0,8789-4,123	0,103
Nº LÍNEAS QT-NEO	1,333	0,6655-2,669	0,418
Nº CICLOS QT-NEO	0,9773	0,8971-1,065	0,599
RESPUESTA COMPLETA QT-NEO	1,399	0,4297-4,554	0,577
QT ADYUVANTE	1,163	0,5378-2,513	0,702
OXALIPLATINO-NEO	1,52	0,8315-2,779	0,174
IRINOTECAN-NEO	1,211	0,6081-2,412	0,586
CETUXIMAB-NEO	2,446	0,7371-8,118	0,144
BEVACIZUMAB NEO	1,068	0,4717-2,418	0,875
RECIDIVA 1º-AÑO	2,695	1,461-4,971	0,0015
NÚMERO METÁSTASIS	1,047	0,8661-1,266	0,634
TAMAÑO METÁSTASIS	1,01	0,99-1,03	0,339
RESECCIÓN SINCRÓNICA	2,028	0,9204-4,467	0,0794
CEA PREHEPATECTOMÍA	1,005	1,001-1,009	0,0203
BORDE LIBRE R0	0,7768	0,389-1,551	0,474
RESECCIÓN M1 PULMÓN	1,09	0,5029-2,362	0,827
VIMENTINA-COLON	-	-	
E-CADHERINA-COLON	-	-	
N-CADHERINA-COLON	-	-	

CDX2-COLON	6,017	1,81-20	0,0034
CD44-COLON	0,8058	0,4281-1,517	0,503
MUC2-COLON	0,9715	0,5149-1,833	0,929
VIMENTINA-META	-	-	
E-CADHERINA-META	-	-	
N-CADHERINA-META	4,871	2,121-11,19	0,00019
CDX2-META	3,102	1,204-7,989	0,019
CD44-META	0,4668	0,246-0,8857	0,0197
MUC2-META	0,6747	0,3674-1,239	0,204

La supervivencia libre de enfermedad ha sido superior aunque no significativa, en los pacientes de sexo femenino (mediana de SV 62 meses vs 14 meses; $p=0,18$), (Figura 26) (Tabla 11)

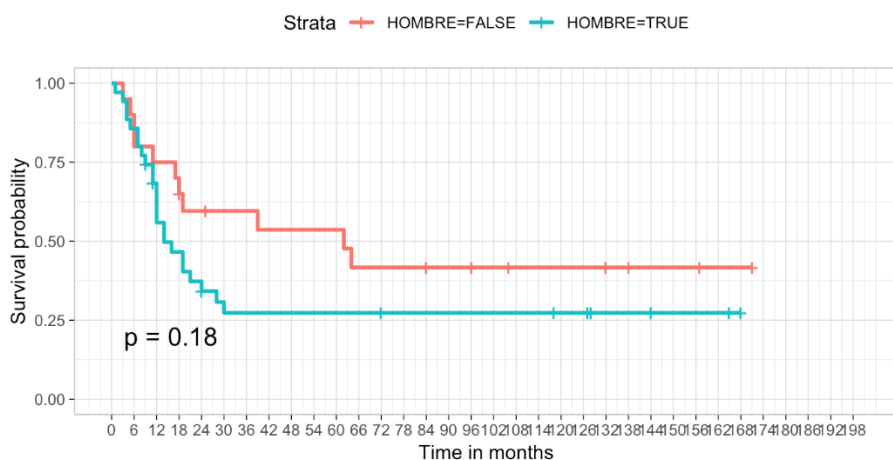


Figura 26: Supervivencia libre de enfermedad-Sexo

en los pacientes con neoplasia de colon (mediana de SV 24 meses vs 19 meses; $p= 0,4$), (Figura 27) (Tabla 10,11)

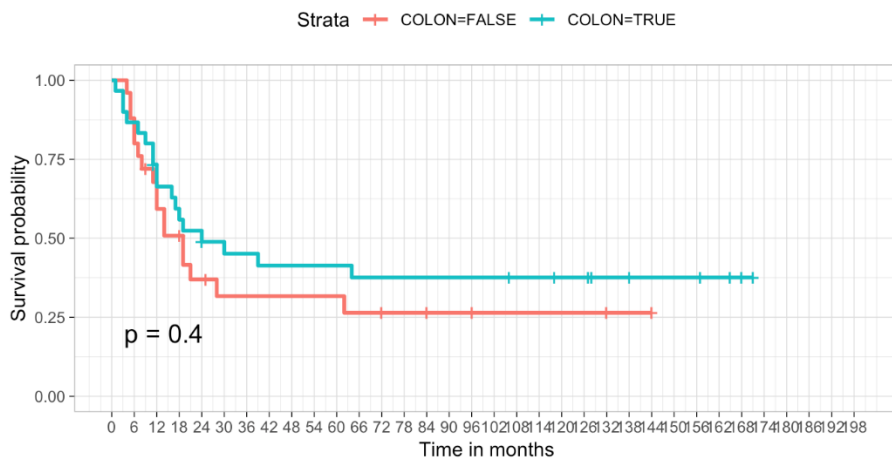


Figura 27: Supervivencia libre de enfermedad-Neoplasia de colon

en los pacientes con metástasis unilobares (mediana de SV 28 meses vs 12 meses; $p=0,11$), (Figura 28)

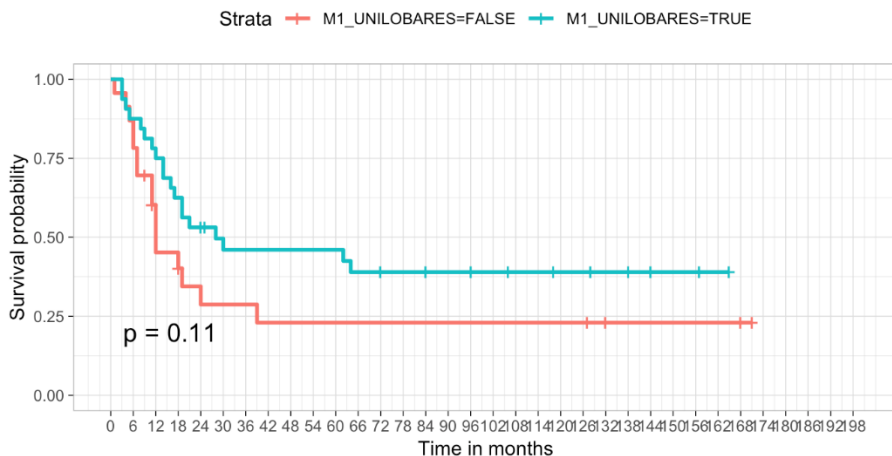


Figura 28: Supervivencia libre de enfermedad- Metástasis hepáticas unilobares

y en los pacientes con metástasis resecables al diagnóstico de la enfermedad (mediana de SV 21 meses vs 12 meses; $p=0,095$). (Figura 29) (Tabla 11)

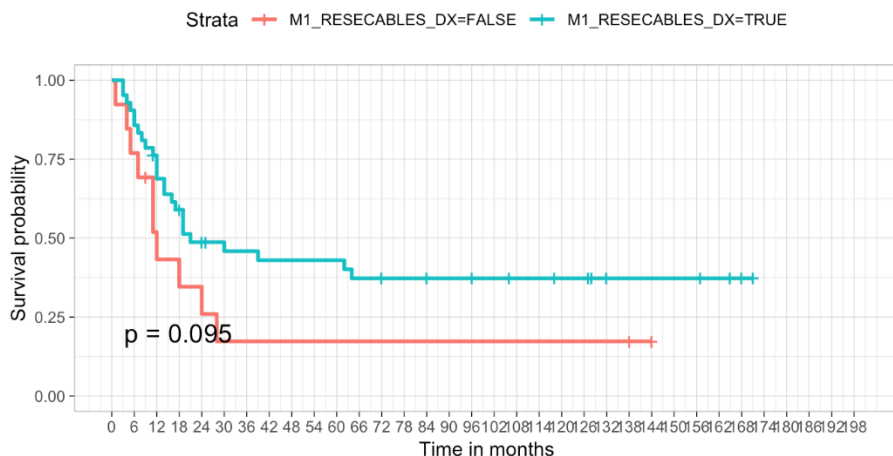


Figura 29: Supervivencia libre de enfermedad-Metástasis hepáticas resecables al diagnóstico.

La supervivencia libre de enfermedad ha sido inferior pero no significativa, en los pacientes con una cirugía del tumor primario urgente (mediana de SV 17 meses vs 24 meses; $p=0,14$), (Figura 30) (Tabla 11)

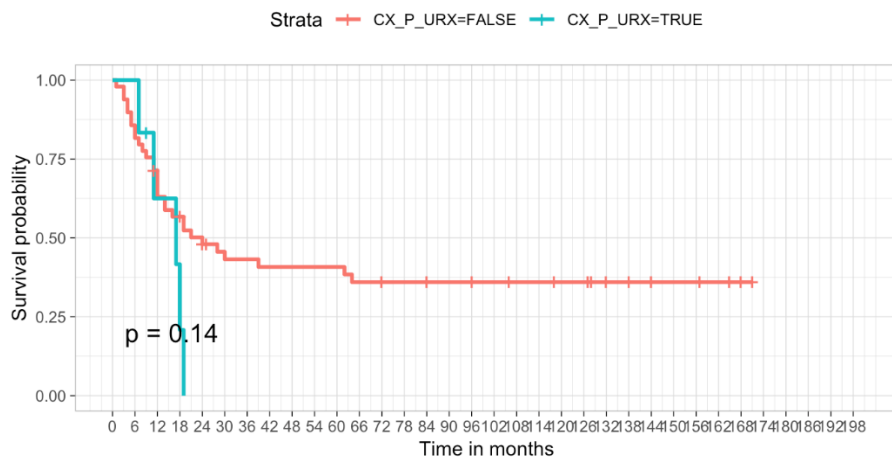


Figura 30: Supervivencia libre de enfermedad-Cirugía urgente de la neoplasia del colon

en los pacientes que han recibido FOLFOX neoadyuvante (mediana de SV 16 meses vs 24 meses; $p=0,16$), (Figura 31) (Tabla 11)

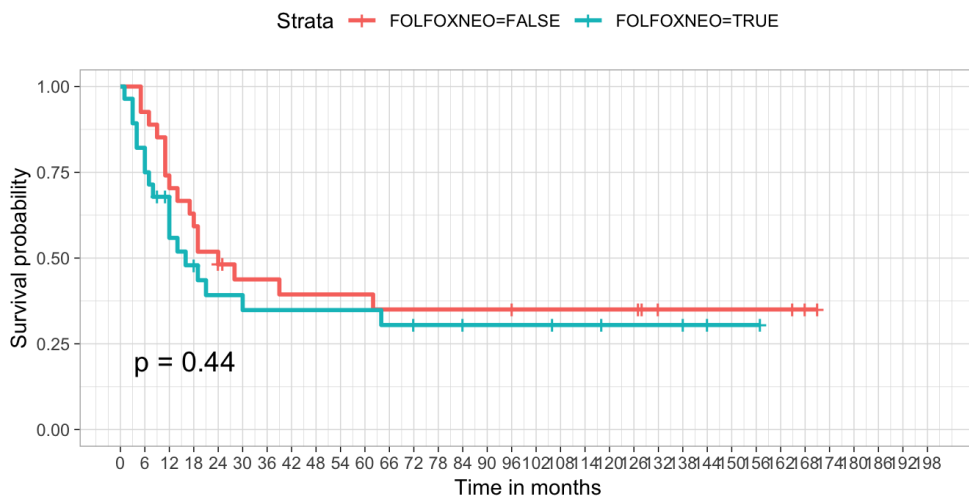


Figura 31: Supervivencia libre de enfermedad-FOLFOX neoadyuvante

en los pacientes que han recibido Bevacizumab neoadyuvante (mediana de SV 11 meses vs 21 meses; $p=0,16$), (Figura 32) (Tabla 11)

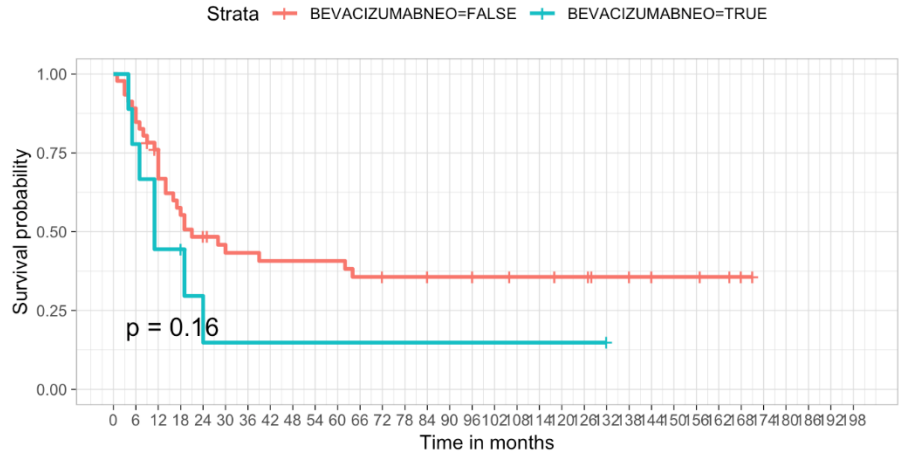


Figura 32: Supervivencia libre de enfermedad-Bevacizumab neoadyuvante

en los pacientes con expresión inmunohistoquímica de MUC2 en la zona de transición del margen tumoral del adenocarcinoma de colon (mediana de SV 18 meses vs 30 meses; $p=0.27$); (Figura 33) (Tabla 11)

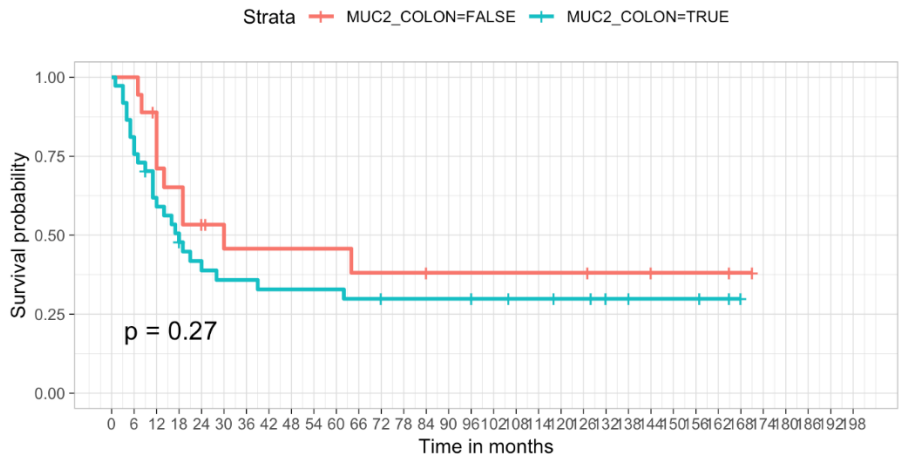


Figura 33: Supervivencia libre de enfermedad-MUC2 neoplasia de colon

y en los pacientes con ausencia de expresión inmunohistoquímica de CDX2 en el tumor colo-rectal (HR:12,19; IC 95%: 1,653-89,89; p=0,0142), (Figura 34) (Tabla 10)

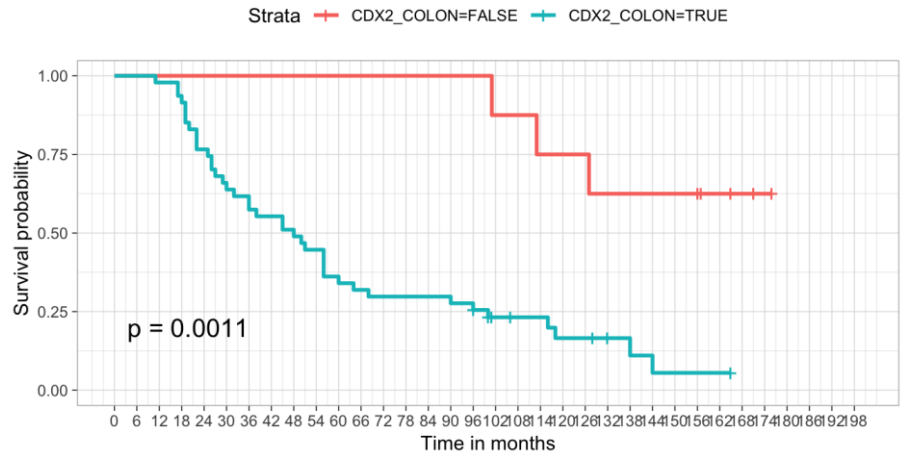


Figura 34: Supervivencia libre de enfermedad-CDX2 neoplasia de colon

de CDX2 en la metástasis hepática (HR: 3,594; IC 95%: 1,09-11,85; p=0,0355). (Figura 35) (Tabla 10)

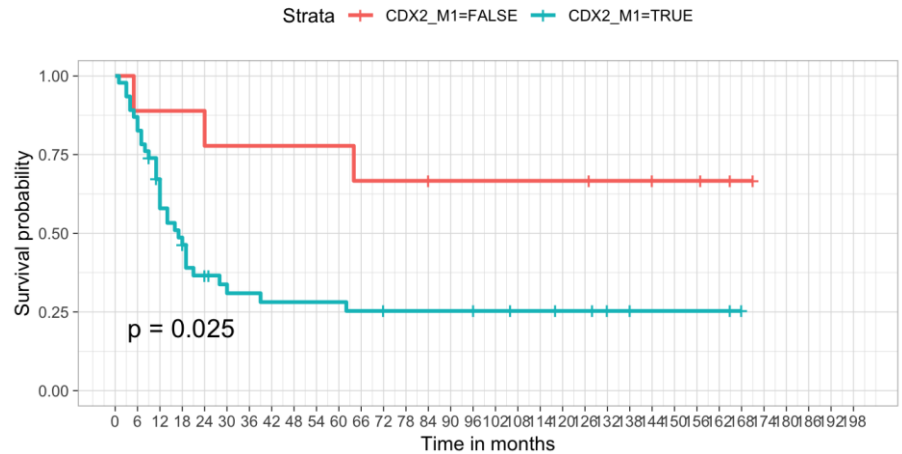


Figura 35: Supervivencia libre de enfermedad-CDX2 metástasis hepática

La supervivencia libre de enfermedad ha sido significativamente inferior en los pacientes que han recibido quimioterapia neoadyuvante (HR: 3,158; IC 95%:1,22-8,178; $p=0,0178$), (Figura 36) (Tabla 10)

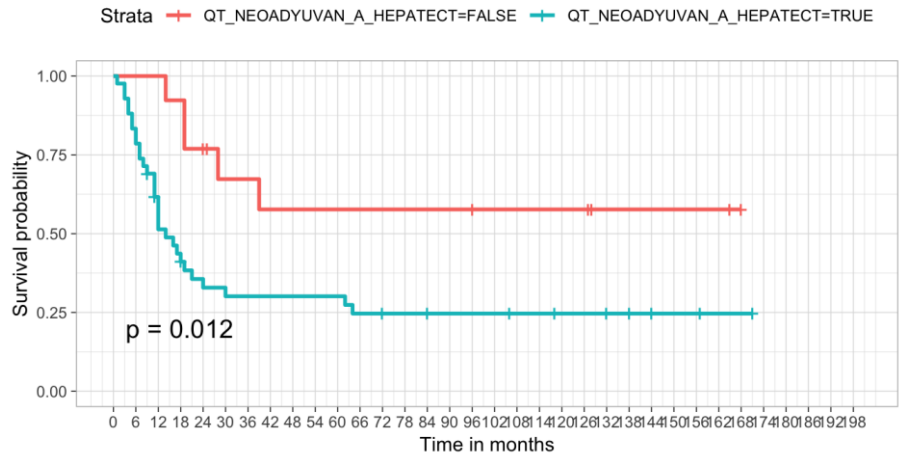


Figura 36: Supervivencia libre de enfermedad-QT neoadyuvante a hepatectomía

Irinotecan neoadyuvante (HR: 2,251;1,11-4,566; $p=0,0245$), (Figura 37) (Tabla 10)

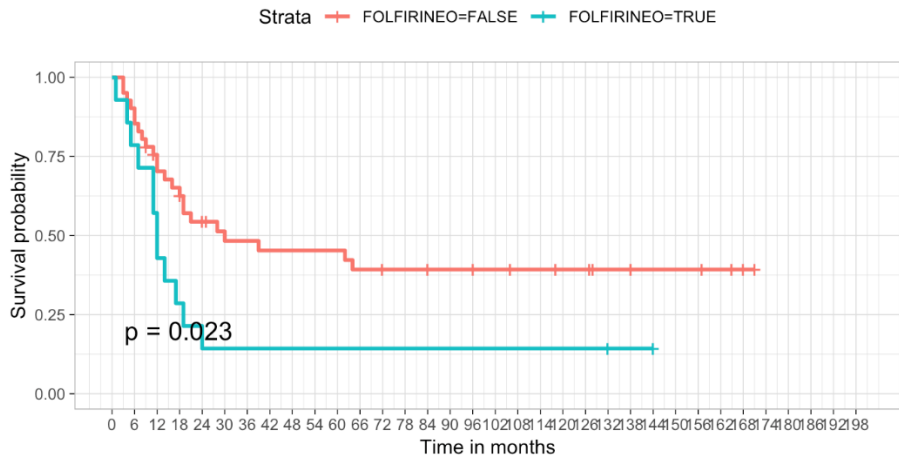


Figura 37: Supervivencia libre de enfermedad-FOLFIRI neoadyuvante

en los pacientes con un CEA prehepatectomía más elevado (HR: 1,009; IC 95%: 1,003-1,015; $p=0,0029$), y en los pacientes con expresión inmunohistoquímica en la zona de transición de N-cadherina en la metástasis hepática (HR:3,278; IC 95%: 1,427-7,528; $p=0,00514$). (Figura 38) (Tabla 10)

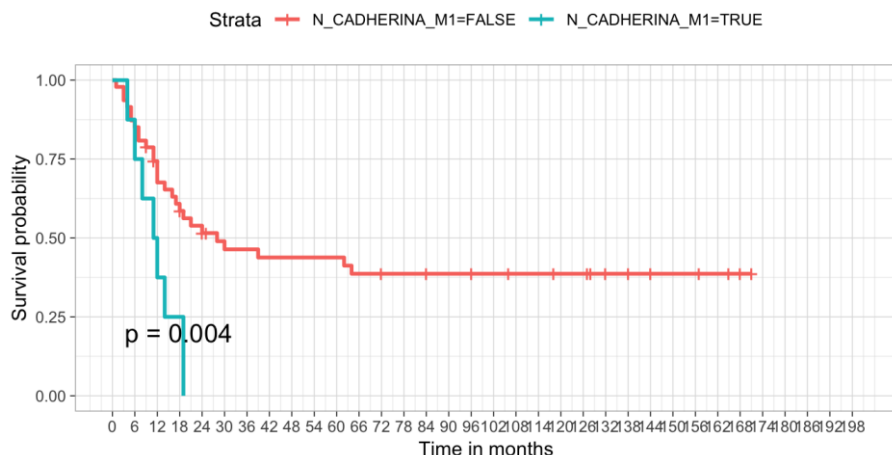


Figura 38: Supervivencia libre de enfermedad-N-cadherina metástasis hepática

No obstante, se ha observado una supervivencia libre de enfermedad significativamente superior en los pacientes con ausencia de expresión inmunohistoquímica en la zona de transición de CD44 en la metástasis hepática (HR: 0,3757; IC 95%: 0,1779-0,7934; $p=0,0103$) (Figura 39) (Tabla 10)

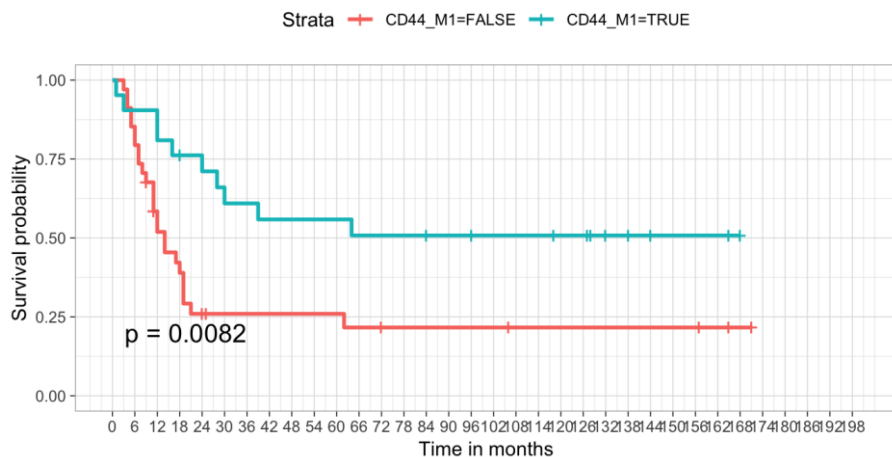


Figura 39: Supervivencia libre de enfermedad-CD44 metástasis hepática

y, de MUC2 en la metástasis hepática (HR: 0,4459; IC 95%: 0,2242-0,8867; $p=0,0213$) (Figura 40) ((Tabla 10).

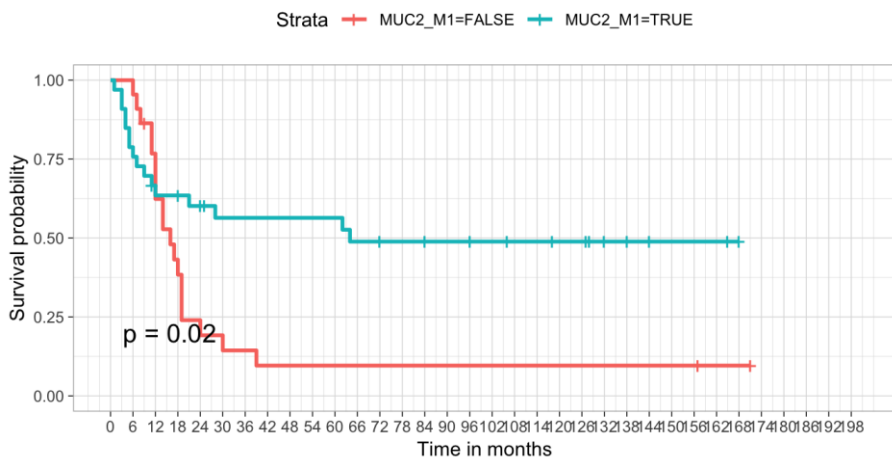


Figura 40: Supervivencia libre de enfermedad-Metástasis hepática

Tabla 10: Regresión de COX. Supervivencia libre de enfermedad

	HAZARD RATIO	IC 95%	p
SEXO-MUJER.	0,6125	0,7961-3,348	0,181
EDAD	0,9948	0,9667-1,024	0,72
TUMOR PRIMARIO COLON	0,7472	0,384-1,454	0,391
CIRUGÍA URGENTE	2,072	0,7805-5,498	0,144
T-COLON-RECTO	0,9196	0,565-1,497	0,736
N-COLON-RECTO	1,044	0,7176-1,519	0,822
M1-SINCRÓNICAS	1,406	0,6864-2,882	0,351
M1-METACRÓNICAS	0,711	0,347-1,457	0,351
M1-UNILOBARES	0,5791	0,2957-1,134	0,111
M1-MULTILOBARES	1,727	0,8817-3,382	0,111
M1-RESECTABLES-DIAGNÓSTICO	0,5391	0,2577-1,127	0,101
METÁSTASIS PULMON RESECCIÓN R0	1,636	0,7029-3,806	0,254
METASTASECTOMÍA	0,8748	0,4348-1,76	0,708
RECIDIVA HEPÁTICA	4,134	1,907-8,961	0,0003
RECIDIVA PULMONAR	3,45	1,68-7,085	0,0007
RECIDIVA PERITONEAL	3,05	1,486-6,261	0,0023
RECIDIVA TEMPRANA HEPATICA	5,084	1,771-14,6	0,0025
RECIDIVA TEMPRANA EXTRAHEPÁ			
RECIDIVA TEMPRANA H-E	10,22	3,156-33,1	0,0001
RECIDIVA TARDÍA HEPÁTICA			
RECIDIVA TARDÍA EXTRAHEP	1,487	0,6903-3,204	0,311
RECIDIVA TARDÍA H-E	1,813	0,8739-3,76	0,11
QT NEOADYUVANTE	3,158	1,22-8,178	0,0178
Nº LÍNEAS QT-NEO	2,034	0,9908-4,176	0,053
Nº CICLOS QT-NEO	1,027	0,9439-1,118	0,534
RESPUESTA COMPLETA QT-NEO	1,024	0,2456-4,272	0,974
QT ADYUVANTE	1,512	0,5863-3,897	0,393
OXALIPLATINO-NEO	1,298	0,6682-2,522	0,441
IRINOTECAN-NEO	2,251	1,11-4,566	0,0245
CETUXIMAB-NEO	1,711	0,405-7,227	0,465
BEVACIZUMAB NEO	1,813	0,786-4,183	0,163
RECIDIVA 1º-AÑO	5,522	2,707-11,26	0,000
NÚMERO METÁSTASIS	1,078	0,875-1,327	0,481
TAMAÑO METÁSTASIS	0,9993	0,9782-1,021	0,947
RESECCIÓN SINCRÓNICA	1,511	0,658-3,647	0,331
CEA PREHEPATECTOMÍA	1,009	1,003-1,015	0,0029
BORDE LIBRE R0	0,8072	0,366-1,78	0,596
RESECCIÓN M1 PULMÓN	1,636	0,7029-3,806	0,254
VIMENTINA-COLON			
E-CADHERINA-COLON			
N-CADHERINA-COLON			

CDX2-COLON	12,19	1,653-89,89	0,0142
CD44-COLON	0,9758	0,484-1,967	0,945
MUC2-COLON	1,487	0,7137-3,098	0,289
VIMENTINA-META			
E-CADHERINA-META			
N-CADHERINA-META	3,278	1,427-7,528	0,00514
CDX2-META	3,594	1,09-11,85	0,0355
CD44-META	0,3757	0,1779-0,7934	0,0103
MUC2-META	0,4459	0,2242-0,8867	0,0213



Tabla 11: Resultados de comparación de medianas de supervivencia mediante las curvas de Kaplan-Meier

	Mediana SV Global (meses)	Mediana SV libre de enfermedad (meses)
Sexo (mujer/hombre)	100/45 p=0,15	62/14 p=0,18
Colon/recto	60/45 p=0,12	24/19 p=0,4
Cirugía programada/urgente	55/387 p=0,44	17/24 p=0,14
Metástasis metacrónicas/sincrónicas	98/51 p=0,37	19/19 p=0,33
Metástasis unilobares/bilobares	56/48 p=0,35	28/12 p=0,11
Metastasectomía/ hepatectomía anatómica	56/45 p=0,32	18/21 p=0,71
Transfusión +/-	26/60 p=0,66	24/10 p=0,013
Cirugía en un tiempo +/-	29/62 p=0,072	14/19 p=0,32
Metástasis resecables al diagnóstico +/-	56/45 p=0,49	21/12 p=0,095
Edad >70 años/ <70 años	56/53 p=0,61	39/18 p=0,24
Margen +/-	56/56 p=0,474	19/18 p=0,59
CEA<50/ >50	58/29 p=0,4	20/17 p=0,4
Metástasis pulmonares	68/53 p=0,8	19/19 p=0,8
Quimioterapia adyuvante +/-	56/51 p=0,53	19/18 p=0,7
Quimioterapia neoadyuvante +/-	56/116 p=0,09	15/36 p=0,012
Oxaliplatino neoadyuvante +/-	50/56 p=0,61	16/24 p=0,44
Cetuximab neoadyuvante +/-	32/56 p=0,15	21/19 p=0,45
Bevacizumab neoadyuvante +/-	60/56 p=0,875	11/21 p=0,16
Irinotecan neoadyuvante +/-	56/50 p=0,61	12/30 p=0,023
Respuesta completa a Qt neo +/-	60/56 p=0,57	19/19 p=0,99
Respuesta parcial a Qt neo +/-	20/23 p=1	17/19 p=1
CD44 colon +/-	60/50 p=0,49	59/49 p=0,49
MUC 2 colon +/-	70/56 p=0,91	18/30 p=0,27
Recidiva hepática +/-	36/118 p=0,00	
Recidiva pulmonar +/-	45/101 p=0,00	
Recidiva peritoneal +/-	30/66 p=0,034	
Recidiva temprana hepática +/-	26/56 p=0,026	
Recidiva temprana hepática y pulmonar +/-	22/58 p=0,00	

Se ha realizado un estudio multivariante mediante un modelo de regresión múltiple de COX, donde la variable resultado es cuantitativa (Supervivencia global, Supervivencia libre de enfermedad), y las variables predictoras incluidas en el modelo fueron aquellas con significación estadística ($p < 0,05$) en análisis de regresión lineal simple y, aquellas próximas a la significación; no incluyendo al resto de las variables en dicho modelo. El objetivo del modelo de regresión logística multivariante es: en primer lugar, cuantificar la relación existente entre las distintas variables predictoras incluidas en el modelo y la variable resultado (supervivencia), en segundo lugar controlar y ajustar aquellas variables predictoras que actúan como potenciales factores modificadores de efecto, especialmente los factores de confusión, y en tercer lugar predecir la respuesta de la variable resultado en función de las variables predictoras o factores de riesgo, clasificando a los individuos en una de las dos posibles respuestas en función de la probabilidad que arroje su perfil de variables predictoras incluidas en el modelo de regresión logística multivariante.

Se elabora un primer modelo multivariante de regresión de COX para el análisis de la supervivencia global en el que se incluyen aquellas variables para las que se ha observado significación estadística ($p < 0,05$):

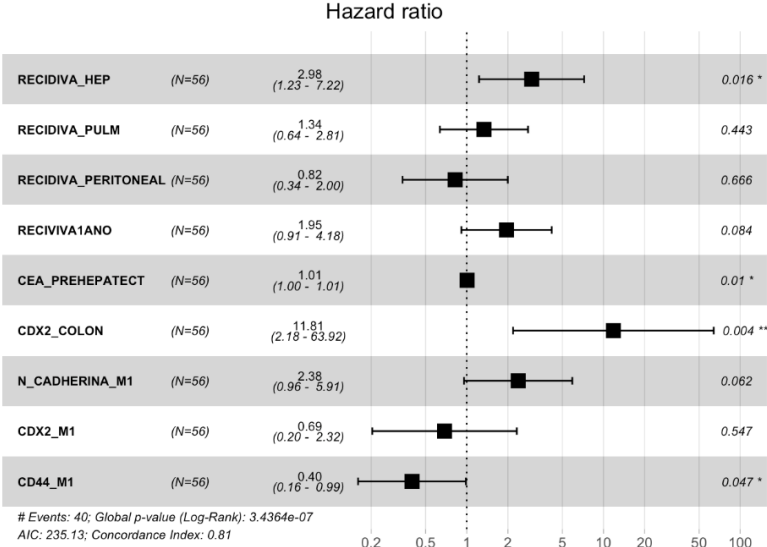
- Recidiva hepática. $p=0,00019$
- Recidiva pulmonar. $p=0,00447$
- Recidiva peritoneal. $P=0,0342$
- Recidiva al primer año. $P=0,0015$
- CEA prehepatectomía. $p=0,0203$
- CDX2 neoplasia colon. $p=0,0034$
- N-cadherina metástasis hepática. $p=0,00019$
- CDX2 metástasis hepática. $P=0,019$
- CD44 metástasis hepática. $P=0,0197$.

Se han identificado como factores de riesgo de supervivencia únicamente a tres variables (Figura 41):

- Recidiva hepática (HR 2,9804, IC 95%: 1,2302-7,2207; p=0,01557).
- CDX2 neoplasia de colon (HR 11,8097, IC 95%: 2,18-63,9186; p=0,00416).
- CD44 metástasis hepática (HR 0,3979, IC 95%: 0,1604-0,9873; p=0,04685).

Lo que significa, que la recidiva hepática es un factor pronóstico que implica una disminución de la supervivencia global, y que, la ausencia de expresión de CDX2 en la zona de transición de la neoplasia de colon, y la expresión de CD44 en la zona de transición de la metástasis hepática son factores pronósticos favorables lo que conlleva un aumento de la supervivencia global en los pacientes.

Figura 41: Estudio multivariante. Supervivencia global.



Se ha elaborado un segundo modelo multivariante de regresión de COX para el análisis de la supervivencia libre de enfermedad, en el que se incluyen las variables cuya presencia ha implicado diferencias significativas de supervivencia ($p < 0,05$):

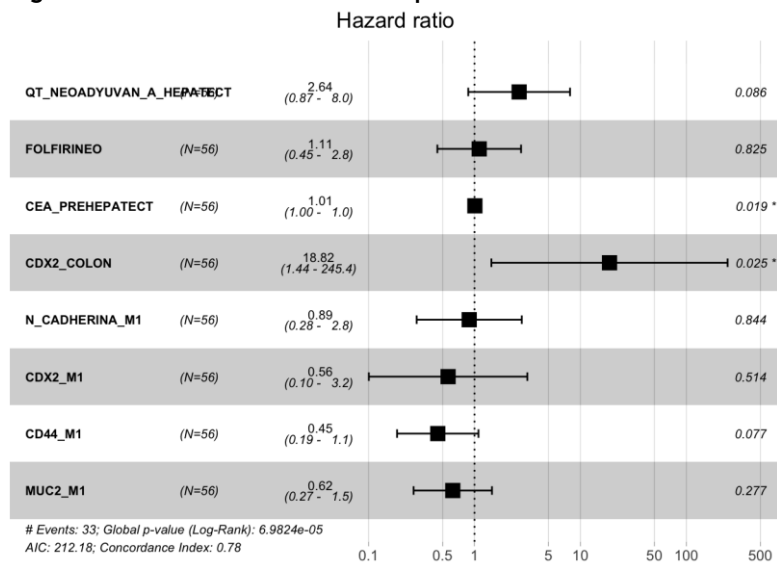
- QT neoadyuvante a la hepatectomía $P=0,0178$
- FOLFIRI neoadyuvante $p=0,0245$
- CEA prehepatectomía. $p=0,0029$
- CDX2 neoplasia colon. $p=0,0142$
- N-cadherina metástasis hepática. $p=0,00514$
- CDX2 metástasis hepática. $P=0,0355$
- CD44 metástasis hepática. $P=0,0103$
- MUC2 metástasis hepática. $p=0,0213$

Se ha observado a una única variable estadísticamente significativa y clínicamente relevante (Figura 42):

- CDX2 neoplasia de colon (HR 18,8247, IC 95%: 1,4438-245,442; $p=0,0251$).

Lo que significa, que ausencia de expresión de CDX2 en la zona de transición de la neoplasia de colon es un factor pronóstico favorable que implican un aumento de la supervivencia libre de enfermedad en los pacientes.

Figura 42: Estudio multivariante. Supervivencia libre de enfermedad.



4. DISCUSIÓN

El cáncer colo-rectal es uno de los cánceres más frecuentes en Occidente. Dos terceras partes de los pacientes desarrollarán metástasis durante la evolución de su enfermedad, el hígado es el órgano más frecuente de diseminación metastásica y en el 30-40% de los pacientes será el primero en el que se produzca. La supervivencia a cinco años en los pacientes no tratados con metástasis metacrónicas o sincrónicas es inferior al 6%. No obstante, a diferencia de otros tipos de tumores, la presencia de enfermedad metastásica a distancia no impide la administración de un tratamiento con intención curativa. Gracias a los avances obtenidos con el tratamiento multidisciplinar de estos pacientes, la resección quirúrgica del tumor primario y de la enfermedad metastásica asociados a un tratamiento quimioterápico, ha demostrado un aumento de la supervivencia para la mayoría de los pacientes (50-60% de supervivencia global a los 5 años)[30]. Desafortunadamente no todos los pacientes con cáncer colo-rectal son candidatos a un tratamiento quirúrgico, debido a la irreseccabilidad de su enfermedad hepática-extrahepática o bien, a su inoperabilidad debido a su situación funcional. No obstante, los criterios para la selección de los pacientes para una resección hepática por metástasis están en constante evolución y expansión. Una selección adecuada de los pacientes candidatos a un tratamiento quirúrgico es fundamental para conseguir un aumento de la supervivencia[165].

El principal objetivo de este trabajo ha sido evaluar los factores pronósticos relacionados con la supervivencia global, la supervivencia libre de enfermedad y la recurrencia de los pacientes sometidos a una hepatectomía para la resección de metástasis hepáticas de origen colo-rectal. Todos los pacientes han sido tratados mediante un abordaje multidisciplinar que ha consistido en quimioterapia neoadyuvante para la mayoría de los pacientes, resección de la enfermedad metastásica, y la realización de una re-hepatectomía en el caso de recurrencia resecable de la enfermedad. Se han comparado los resultados obtenidos con los publicados en los últimos estudios.

4.1 COMORBILIDAD

Es necesario analizar una serie de factores relacionados con el paciente antes tomar la decisión de realizar una resección hepática en un paciente con cáncer colorrectal estadio IV[166]: edad, comorbilidades, tolerancia a la anestesia, etc,...

La técnica quirúrgica puede realizarse mediante un abordaje clásico abierto o laparoscópico, bajo anestesia general con o sin catéter epidural. La pérdida intra-operatoria de sangre y la necesidad de transfusión sanguínea son probablemente los factores más importantes relacionados con la morbilidad tras una hepatectomía. La cirugía cardíaca previa, la hipertensión arterial, la diabetes, la disnea, la ascitis, la infección de sitio quirúrgico, el abuso de alcohol, la diálisis, y la presencia de enfermedades hematológicas predisponen a una mayor morbilidad[167]. Por ello, dichas comorbilidades deberían de optimizarse pre-operatoriamente para reducir al máximo el número de pacientes a los cuales se les contraindique una cirugía (insuficiencia renal, insuficiencia hepática aguda, hepatitis viral aguda, hepatitis alcohólica, miocardiopatía, hipoxemia, coagulopatía severa)[168].

En varios estudios multicéntricos se ha observado que la edad avanzada es un factor de riesgo independiente en relación a la morbilidad tras la realización de una cirugía abdominal mayor, no obstante, hay muchas publicaciones en las que los resultados obtenidos son diferentes y no se han observado diferencias significativas en cuanto a resultados en grupos de pacientes ancianos al compararlos con grupos de pacientes jóvenes[169]. Ello se debe sobre todo a que, en ciertas publicaciones se incluyen grupos de pacientes ancianos muy seleccionados y por lo tanto los resultados son mejores. No se debe excluir a un paciente para la realización de una resección hepática por el mero hecho de pertenecer a la tercera edad, es necesario considerar todos los factores asociados que pueden añadir morbilidad[170]. Debido a la controversia existente, el Colegio Americano de Cirujanos realizó un estudio dentro del programa de investigación de calidad (NSQIP- National Surgical Quality Improvement Program), en el que participaron 400 hospitales, y se compararon dos grupos de pacientes: mayores de 75 años y menores de 75 años sometidos a una hepatectomía programada. Se observó en dicho estudio que los pacientes ancianos tuvieron

complicaciones más severas y con una mayor mortalidad debido a una capacidad fisiológica mucho más limitada para poder superarlas con éxito[171]. Por todo ello, lo más razonable es optimizar preoperatoriamente a los pacientes ancianos y, seleccionar a aquellos con una mayor probabilidad de sobrevivir a una intervención quirúrgica mayor.

En el trabajo realizado por Adam et al, se han estudiado a 7764 pacientes, la resección de metástasis hepáticas de origen colo-rectal en pacientes con una edad superior a los 70 años es factible, con una supervivencia razonable comparable a la obtenida en pacientes jóvenes, y una mortalidad perioperatoria baja. Han identificado cuatro factores de riesgo independientes relacionados con la supervivencia en este grupo de pacientes: tres o más metástasis, presencia de enfermedad extrahepática, enfermedad bilateral y, la administración de quimioterapia post-operatoria.

En nuestra serie, por encima de los 70 años se han intervenido 16 pacientes, un 28,6% de la muestra, únicamente se ha observado una complicación post-operatoria en un paciente de 72 años al que se le había realizado una seccionectomía lateral izquierda y, tuvo una colección abdominal que se sobreinfectó y hubo que tratar, alargando su estancia post-operatoria hasta los 43 días (Tabla 5). La estancia post-operatoria media de los pacientes con una edad superior a los 70 años fue de 15,89 días (DS 10,5 días), inferior a la de los pacientes con una edad inferior a los 70 años que fue de 17,30 días (DS 11,05). La baja tasa de complicaciones y la estancia post-operatoria inferior en el grupo de pacientes ancianos se debe a que la indicación de resección hepática fue mucho más selectiva, es decir, únicamente han sido intervenidos aquellos pacientes con escasa morbilidad, y con tumores que implicaban una resección hepática no compleja; de hecho, han sido todas hepatectomías menores (5 seccionectomías laterales izquierdas y 11 metastasectomías).

No se ha observado en el trabajo Adam et al, la existencia de una edad límite que contraindique la resección hepática ni la administración de quimioterapia, pero sí la necesidad de identificar las diferentes comorbilidades para minimizar la mortalidad perioperatoria[172].

En la literatura también se ha analizado las diferencias de supervivencia entre los pacientes jóvenes y los pacientes ancianos, de hecho, se ha descrito una supervivencia inferior en los pacientes con menos de cuarenta años de edad, con una evolución mucho más agresiva, con una mayor recurrencia de la enfermedad en un intervalo de tiempo significativamente más corto (supervivencia global a cinco años 33% vs 51%; supervivencia libre de enfermedad a cinco años 2% vs 16%). Por lo que es necesario un tratamiento quimioterápico, quirúrgico y, un seguimiento estrecho en los pacientes jóvenes para obtener unos resultados comparables a los obtenidos en grupos de pacientes de mayor edad[173-175].

En nuestra serie únicamente se ha tratado a un paciente con una edad inferior a los cuarenta años, en el que se ha observado una supervivencia libre de enfermedad de 64 meses (Figura13), por lo que no se pueden obtener conclusiones de dicho resultado. No obstante, cuando se segregan a los pacientes de la serie por encima y por debajo de 70 años (Figura 14), sí que se observa en las curvas de Kaplan Meier diferencias de supervivencia. Los pacientes con una edad superior a los 70 años tienen una mediana de supervivencia libre de enfermedad de 39 meses, y los pacientes con una edad inferior a los 70 años tienen una mediana de supervivencia libre de enfermedad de 18 meses, aunque para dicha diferencia no se haya alcanzado significación estadística ($P=0,24$).

La cirugía laparoscópica hepática ha aumentado en los últimos años debido a que produce un menor estrés quirúrgico, una menor pérdida de sangre, un menor dolor, una menor estancia hospitalaria, y una menor tasa de complicaciones en términos absolutos; lo que puede contribuir a expandir los criterios de operabilidad en pacientes con comorbilidades. Pero lo que es más importante, es comparable a la cirugía abierta en cuanto a resultados oncológicos (supervivencia global y, supervivencia libre de enfermedad)[174]. En nuestra serie únicamente se han intervenido a 3 pacientes mediante un abordaje laparoscópico (5,4%) (Tabla 2), no obstante, en el momento actual se ha expandido la indicación laparoscópica y el 70% de las resecciones de metástasis hepáticas se realiza mediante una técnica mínimamente invasiva.

4.2 PRUEBAS DE IMAGEN PREOPERATORIAS

La realización de estudios de imagen preoperatorios en los pacientes con metástasis hepáticas tiene como objetivo: la localización de la enfermedad, la planificación de la intervención quirúrgica y, la identificación de la enfermedad extrahepática (diseminación linfática, peritoneal, pulmonar, etc.). Para ello existen muchas posibilidades, el empleo de una técnica u otra dependerá de su disponibilidad y de la experiencia del centro en el que se trate al paciente. Desde el año 2006 se recomienda la utilización de un TC con contraste de tórax, abdomen y pelvis, por ello es la prueba de imagen que se emplea con más frecuencia para la caracterización de la enfermedad metastásica, proporcionando una sensibilidad que supera el 90% en la mayoría de las series. Sin embargo, existen dos problemas importantes, la necesidad de dosis de radiación muy elevadas, y la incapacidad para la detección de muchas lesiones subcentimétricas; ello ha impulsado el desarrollo y el empleo de la resonancia magnética con contraste hepato-específico, técnica con un mayor coste y con una menor disponibilidad para su realización en la mayoría de los hospitales. Un estudio retrospectivo reciente ha propuesto que la realización de un TC preoperatorio y una ecografía hepática intra-operatoria es suficiente, dado que conjuntamente proporcionan una sensibilidad diagnóstica similar a la de una resonancia, a excepción de los pacientes con esteatosis grasa[176]. En la actualidad se está empleando en muchos centros la ecografía intraoperatoria con contraste, lo que aumenta su potencial diagnóstico y permite a tiempo real la caracterización de la microvasculatura hepática y del patrón de captación de las lesiones hepáticas[177]. No obstante, el hecho de tener preoperatoriamente una RM con contraste hepatoespecífico, permite hacer una correcta planificación de la cirugía y evitar intervenciones innecesarias. En nuestra serie se realizó RM hepática a 32 pacientes (57,1%) (Tabla 1).

4.3 NÚMERO DE METÁSTASIS, MARGEN DE RESECCIÓN Y, LOCALIZACIÓN DE METÁSTASIS HEPÁTICAS.

A pesar de que la resección de las metástasis hepáticas continúa siendo la única opción con intención curativa, solamente un 25% de los

pacientes pueden ser operados[178]. En 1986 Hughes KS et al publicaron un estudio pionero en el que se pudieron establecer por primera vez unos criterios para la resección de las metástasis hepáticas, observando que la presencia de adenopatías en el pedículo hepático, la extensión extra-hepática de la enfermedad, cuatro o más lesiones hepáticas y, el debut sincrónico de las metástasis eran criterios que contraindicaban la intervención quirúrgica[179]. En el mismo año, Ekberg et al establecieron los siguientes criterios de resecabilidad: un máximo de tres lesiones hepáticas, la posibilidad de hacer una resección con un margen de resección superior a los 10mm y la ausencia de enfermedad extrahepática[180]. Desde entonces se ha producido una evolución y una expansión constante de los criterios para la indicación de la resección de la enfermedad metastásica hepática.

Los resultados a largo plazo de los pacientes con un gran número de lesiones metastásicas es obvio que son peores que los de los pacientes con un número más limitado de lesiones, pero la cirugía y la quimioterapia suponen la única posibilidad de prolongar su supervivencia, sobre todo en el grupo de pacientes en los que se pueda llevar a cabo una resección completa de la enfermedad.

La presencia de diez o más lesiones metastásicas representa un estadio avanzado de la enfermedad. En un estudio realizado en 12.406 pacientes incluidos en la base de datos de LiverMetSurvey, se ha observado que en el grupo de pacientes con diez o más metástasis (n=529, 4,3%), la supervivencia global a los 5 años fue del 30%. Se realizó un estudio multivariable en el que se han identificado una serie de factores relacionados con dicha supervivencia: tamaño tumoral, edad, realización de RM preoperatoria y tratamiento quimioterápico adyuvante. La resección hepática y la quimioterapia adyuvante pueden proporcionar una supervivencia prolongada en pacientes con diez o más metástasis. De igual manera, el beneficio oncológico ofrecido por una resección quirúrgica completa macroscópica, no puede erradicar todos los tumores microscópicos existentes en un hígado metastásico y, podría considerarse desde un punto de vista oncológico igual que la cirugía citorreductora en el cáncer de ovario, en los que el pronóstico se correlaciona con el tumor residual[181].

En nuestra serie el número medio de lesiones hepáticas fue de 2,089 (DS 1,55). En 9 pacientes (16,1%) hubo dos lesiones hepáticas, y en 13 pacientes (23,2%) hubo 3 o más lesiones hepáticas (Tabla 1).

Para el análisis de la supervivencia global en relación al número de metástasis hepáticas se realizó una regresión de Cox sin obtener diferencias estadísticamente significativas al respecto (HR: 1,047, IC95%: 0,8661-1,266; $p=0,634$) (Tabla 9).

No se han observado tampoco diferencias significativas al analizar la supervivencia libre de enfermedad en relación al número de lesiones metastásicas existentes (HR: 1,078, IC 95%: 0,875-1,327; $p=0,481$) (Tabla 10).

El número de metástasis localizadas en el hígado es en la mayoría de los trabajos publicados un factor pronóstico negativo en relación a la supervivencia, sin embargo, todavía no existe consenso en este aspecto para todos los autores. En nuestra serie no lo hemos observado, de acuerdo a los artículos publicados por Elías et al, el número total de lesiones metastásicas tiene una importancia pronóstica mucho mayor que la localización de las mismas. Por ello, la supervivencia obtenida tras la resección de metástasis hepáticas de origen colorrectal es mayor cuando no queda enfermedad residual macroscópica ni microscópica tras la cirugía (Resección R0)[182, 183]. Por ello, el número de metástasis no debería ser considerado una contraindicación “per se” para la cirugía, y por ello se debe extender la indicación quirúrgica más allá de los límites comúnmente admitidos.

En la actualidad, el único requerimiento para la realización de una resección hepática por enfermedad metastásica es desde el punto de vista anatómico, poder realizar una resección con un margen libre de enfermedad (R0) dejando un remanente hepático con un buen drenaje biliar y con un adecuado flujo sanguíneo aferente y eferente; y desde el punto de vista clínico que el paciente tenga una adecuada capacidad funcional, y una enfermedad localizada a nivel hepático o extrahepático pero resecable[184]. Es obligatoria la resección completa R0 de la tumoración con unos márgenes libres de enfermedad. No obstante, todavía existe la duda acerca de cuál es la distancia apropiada del tumor

al margen de resección. Existen trabajos publicados en los que se ha observado que en los pacientes en los que se realizó una resección con un margen libre de enfermedad inferior a 5 mm la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global fueron inferiores. Los pacientes con márgenes afectos tienen por lo general una supervivencia inferior. A pesar de que los pacientes con un margen de resección libre de infiltración tumoral tienen una mejor evolución, el significado de la distancia existente entre el margen y el tumor continúa siendo objeto de debate[185, 186]. Clásicamente se consideraba como mínimo un margen de resección libre de tumor, al que medía al menos 10 mm, y ello se fundamenta en el trabajo realizado por Dhir et al, un metaanálisis en el que se incluyeron 18 estudios con 4821 pacientes en el que se observó que la supervivencia global a cinco años en los pacientes con un margen ≥ 10 mm fue del 46% (IC 95%, 44-48%), mientras que en los pacientes con un margen <10 mm fue del 38% (IC 95%, 36-40%), significativamente menor[187]. Sin embargo, como consecuencia de las restricciones anatómicas obvias, no es siempre posible conseguir un margen de 10mm y tal vez no sea siempre necesario, sobre todo con la generalización del tratamiento quimioterápico neoadyuvante[188]. La necesidad de una hepatectomía extendida en el caso de metástasis grandes, de localización central o bilateral, incrementa el riesgo de no obtener un margen de resección libre de tumor, es decir, la necesidad de una hepatectomía compleja aumenta la posibilidad de realizar una resección incompleta.

En nuestra serie, se ha podido observar que el margen de resección en las metástasis hepáticas estaba a una distancia del tumor superior a 1mm en 43 pacientes (76,8%) y, a una distancia inferior y, por tanto, considerado como positivo en 13 pacientes (23,2%) (Tabla 3). No existen diferencias significativas al analizar en las curvas de Kaplan Meier la mediana de supervivencia tanto global (56 meses vs 56 meses, $p=0,474$) ni la supervivencia libre de enfermedad (19 meses vs 18 meses, $p=0,59$) (Tabla 9) (Tabla 11). Tampoco se observaron diferencias significativas en el análisis de supervivencia mediante la regresión de Cox, ni para la supervivencia global (HR: 0,7768, IC 95%:

0,389-1,551; $p=0,474$), ni para la supervivencia libre de enfermedad (HR: 0,8072, IC 95%:0,366-1,78; $p=0,596$) (Tabla 10).

Los problemas técnicos durante la realización de una hepatectomía (re-hepatectomía, duración prolongada de la intervención quirúrgica, clampaje prolongado del pedículo hepático, transfusión perioperatoria), representan factores de riesgo para la realización de una resección incompleta de la enfermedad metastásica con un margen positivo. Ayez et al, han descrito supervivencias globales y supervivencias libres de recidiva similares tras resecciones R0 y R1 en pacientes que habían recibido tratamiento neoadyuvante, por lo que han sugerido que la persistencia microscópica tumoral en el margen de resección tras un tratamiento quimioterápico puede no ser relevante y, que la supervivencia tras la administración de quimioterapia neoadyuvante se relacione más con la biología tumoral que con los márgenes de resección[189, 190]. De hecho, existen múltiples publicaciones en las que se ha observado que ni la supervivencia libre de enfermedad, ni la recurrencia están relacionadas con el tamaño del margen de la pieza quirúrgica libre de tumor. En un estudio multicéntrico realizado en 1784 pacientes con enfermedad metastásica hepática, se ha comparado la supervivencia global a 1,3 y 5 años de los pacientes sometidos a una resección hepática R0 con los pacientes en los que no fue posible obtener un margen negativo (64 %, 41% y 28% vs 51%, 28% y 18%). Ello indica que las resecciones R1, a pesar del tratamiento quimioterápico perioperatorio todavía representa un factor de riesgo de recurrencia[183]. En el momento actual se considera para la mayoría de los cirujanos que un margen de un milímetro o menos es suficiente, siempre que dicho margen no contacte con el tumor, debido a la importancia que existe en la preservación del volumen hepático y de su función[191]. Así, el 58-78% de los pacientes desarrollarán recurrencia de la enfermedad tras la resección de la enfermedad metastásica hepática y, en la mitad de los pacientes la recurrencia será únicamente a nivel intrahepático, por ello, es crucial el mantenimiento de la mayor cantidad de volumen hepático tras la primera intervención para no hipotecar la realización de segundas o terceras hepatectomías. Se considera que el margen oncológico mínimo después de una

hepatectomía es de 1 mm. Hace años se creía necesaria la realización de una hepatectomía anatómica porque en una cirugía preservadora de parénquima la posibilidad de obtener unos márgenes positivos era mayor, sin embargo, a día de hoy se consideran equivalentes desde el punto de vista oncológico, siempre que los márgenes sean negativos. El principal factor que influye para decidir la realización de una hepatectomía es la valoración de futuro remante hepático tras una potencial resección quirúrgica[192].

En nuestro trabajo, las metástasis hepáticas se localizaron en un solo lóbulo hepático en 33 pacientes (58,9%) y tuvieron una localización bilateral en 23 pacientes (41,1%) (Tabla 1). Al analizar las curvas de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad, parece evidente que en ambos casos la supervivencia es mayor para los pacientes con afectación de un solo lóbulo hepático (supervivencia global: 56 meses vs 48 meses, $p=0,35$; supervivencia libre de enfermedad: 25 meses vs 12 meses, $p=0,11$), aunque sin alcanzar significación estadística (Figuras 7, 28) (Tabla 11).

Tampoco se han observado diferencias en el análisis mediante la regresión de Cox: Supervivencia global (HR: 0,7531, IC 95%: 0,4111-1,38; $p=0,358$), Supervivencia libre de enfermedad (HR: 0,5791, IC 95%: 0,2957-1,134; $p=0,111$) (Figuras 9, 10).

El tamaño de las lesiones hepáticas desde hace años se ha considerado como un factor de peor pronóstico[193]. En nuestra serie el tamaño medio de la metástasis de mayor tamaño en cada paciente fue de 26,71 mm (DS 20,2 mm) (Tabla 1), y no se ha podido observar que exista una diferencia de supervivencia global (HR: 1,01, IC 95%: 0,99-1,03; $p=0,339$), ni de supervivencia libre de enfermedad en relación al tamaño de las metástasis hepáticas (Figuras 9, 10).

4.4 CIRUGÍA

En nuestra serie al analizar las curvas de Kaplan Meier, la supervivencia libre de enfermedad no es diferente para los pacientes a los que se les realiza una cirugía hepática anatómica de la de los que se les realiza una

cirugía preservadora de parénquima (mediana de supervivencia 18 meses vs 21 meses, $p=0,71$). No obstante, al considerar la supervivencia global, ésta parece mayor en los pacientes a los que se les realiza una cirugía preservadora de parénquima (mediana 56 meses vs 18 meses, $p=0,32$), aunque sin alcanzar significación estadística (Figura 8) (Tabla 11). Supervivencia global (HR:0,7368, IC 95%:0,3966-1,369; $p=0,334$), supervivencia libre de enfermedad (HR:0,8748, IC 95%: 0,4348-1,76, $p=0,708$) (Figuras 9,10).

En una hepatectomía en la que se realiza una cirugía preservadora de parénquima existe una mayor probabilidad de obtener un margen de resección positivo con un peor pronóstico, pero éste hecho no se ha confirmado. En el trabajo multicéntrico realizado por Hosokawa et al, que incluyó a 21.072 pacientes con enfermedad metastásica hepática de origen colorrectal se han estudiado las complicaciones y la supervivencia en pacientes a los que se les realizó una hepatectomía derecha frente a los que se les realizó una cirugía preservadora de parénquima. Se observó que el número de complicaciones (3% vs 10%; $p<0,01$) y la mortalidad post-operatoria (1% vs 3%; $p=0,008$), fue significativamente inferior en el grupo de pacientes con una cirugía preservadora de parénquima. No obstante, la supervivencia libre de enfermedad a cinco años y la recurrencia hepática fue similar en ambos grupos. En el grupo de pacientes con recidiva hepática se realizó una re-hepatectomía en el 67% de los pacientes con cirugía preservadora de parénquima porque el volumen hepático fue suficiente para permitir una nueva resección hepática con intención curativa, frente al 31% de los pacientes a los que se les había realizado una hepatectomía derecha, con una supervivencia global mayor (55% vs 23%; $p<0,001$). Por ello, la cirugía preservadora de parénquima a día de hoy es el procedimiento de elección en todos los casos en los que sea posible[194].

4.5 CEA PRE-HEPATECTOMÍA

Se ha estudiado en esta serie el impacto de los niveles de CEA pre-hepatectomía en la supervivencia global y libre de enfermedad de los pacientes. El valor medio de CEA pre-hepatectomía es de 27,27ng/mL (DS 41,99ng/mL) (Tabla 1). Se ha analizado la supervivencia mediante

regresión de Cox, y se ha observado que existe una menor supervivencia en los pacientes con niveles elevados de CEA pre-hepatectomía, tanto para la supervivencia global (HR:1,005, IC 95%: 1,001-1,009; $p=0,0203$), como para la supervivencia libre de enfermedad (HR: 1,009, IC 95%: 1,003-1,015; $p=0,00297$) (Tablas 9, 10). Se han creado dos grupos de pacientes en función de si los niveles de CEA pre-hepatectomía fueron superiores o inferiores a 50ng/mL. Las curvas de supervivencia de Kaplan Meier obtenidas han sido las siguientes: mediana de supervivencia global para los pacientes con CEA <50ng/mL de 58 meses vs 29 meses para los pacientes con CEA > 50ng/mL; $p=0,4$. Mediana de supervivencia libre de enfermedad para los pacientes con CEA <50ng/mL es de 20 meses vs 17 meses para los pacientes con CEA >50ng/mL (Figura 21) (Tabla 11).

A priori, parece lógico pensar que los pacientes con un CEA pre-hepatectomía bajo, tengan una supervivencia superior a la de los pacientes con un CEA pre-hepatectomía elevado, sin embargo, tras haber desarrollado los modelos de regresión multivariante, no se ha podido demostrar este hecho, y carece de significación estadística y de relevancia para la supervivencia tanto global como libre de enfermedad.

4.6 METÁSTASIS SINCROÑICAS VS METACRÓNICAS.

Una cuarta parte de los pacientes con cáncer colo-rectal tienen de forma sincrónica metástasis hepáticas, y otra cuarta parte las tienen de forma metacrónica. Aunque la presencia de metástasis hepáticas sincrónicas sugiere una naturaleza más agresiva de la enfermedad, y son un factor de riesgo negativo, su existencia no contraindica la resección hepática. Diferentes autores han estudiado y comparado la supervivencia de los pacientes con metástasis hepáticas sincrónicas y metacrónicas, no obstante, no existen unos resultados concluyentes[195, 196]. Bova et al, han analizado el impacto del momento de la presentación de la enfermedad metastásica en la supervivencia a corto y a largo plazo en los pacientes con cáncer colo-rectal, sin demostrar diferencias significativas cuando se realizó una resección R0 con intención curativa[197]. Tam et al han observado un pronóstico más favorable en

los pacientes con metástasis metacrónicas[198]. Ghirimghelli et al han realizado un estudio en un grupo de 932 pacientes con metástasis hepáticas de origen colo-rectal, la supervivencia a 5 años observada en los pacientes con metástasis metacrónicas fue del 17,6% y en los pacientes con metástasis sincrónicas fue del 7,2%[199]. En otros estudios no se han observado diferencias estadísticamente conocidas en cuanto al pronóstico y a la supervivencia global[200, 201].

En nuestra serie, 36 pacientes tuvieron enfermedad metastásica sincrónica (64,3%) y 20 pacientes la tuvieron de forma metacrónica (35,7%) (Tabla 1). No se evidenciaron diferencias en la mediana de supervivencia una vez elaboradas las curvas de supervivencia, ni para la supervivencia global (98 meses vs 51 meses; $p=0,37$), ni para la supervivencia libre de enfermedad (19 meses vs 19 meses; $p=0,33$) (Figura 6) (Tabla 11).

Se ha estimado mediante regresión de Cox, si existe una diferencia significativa de supervivencia entre los pacientes con un debut sincrónico o metacrónico de la enfermedad metastásica hepática, y no se ha objetivado que exista tal diferencia ni para la supervivencia global (HR: 1,345, IC 95%: 0,7133-2,573; $p=0,37$), ni para la supervivencia libre de enfermedad (HR: 1,406, IC 95%: 0,6864-2,882; $p=0,351$) (Tabla 9,10).

El momento para la resección de las metástasis hepáticas sincrónicas es un tema de debate, existen múltiples opciones: el tratamiento clásico que implica la resección del tumor colo-rectal en primer lugar y, a posteriori la resección de las metástasis hepáticas, el tratamiento inverso que consiste en la resección en primer lugar de las metástasis hepáticas y, por último, la resección simultánea del tumor colo-rectal primario y de la enfermedad metastásica. El tratamiento clásico de los pacientes con metástasis hepáticas sincrónicas de cáncer colo-rectal consiste en la resección del tumor primario y a continuación, en un segundo tiempo, en la resección de la enfermedad hepática. La justificación a dicho planteamiento reside en que a priori, parece más lógico tener un control del tumor primario para posteriormente plantearse en función de la evolución de la enfermedad metastásica, la resección de la misma. No obstante, este concepto es objeto de

controversia en la actualidad[202]. El tratamiento alternativo, conocido como cirugía inversa ha ganado mucha popularidad y aceptación dentro de la comunidad quirúrgica dado que permite el control de la enfermedad metastásica, que realmente es lo que determina la supervivencia de los pacientes y, evita la pérdida de tiempo que se produce entre la resección del tumor colo-rectal y la resección del tumor hepático, durante la cual se podría producir una progresión de la enfermedad perdiendo la posibilidad de ofrecer un tratamiento con intención curativa al paciente[203]. Los pacientes con cáncer de recto y enfermedad metastásica representan un reto oncológico porque necesitan de un tratamiento neoadyuvante con quimioterapia y radioterapia previo a la resección del tumor de recto, durante este tiempo la enfermedad metastásica no está tratada y puede progresar. Por ello, estos pacientes son buenos candidatos al tratamiento inverso[184, 204, 205]. En nuestra serie sólo en un paciente se realizó una terapia inversa, se trató de un paciente con una tumoración rectal de tercio medio, que recibió radioterapia y quimioterapia neoadyuvante y que durante el periodo de descanso de 8 semanas se realizó la resección de una metástasis hepática. 43 pacientes (76,8%), han tenido una enfermedad metastásica hepática resecable al diagnóstico (Tabla 1), con una mediana de supervivencia global ligeramente superior (56 meses vs 45 meses; $p=0,49$) a la de los pacientes que se han rescatado para la cirugía tras tratamiento neoadyuvante con quimioterapia y que inicialmente no eran resecables, sin embargo, no se evidenciaron diferencias que alcancen la significación estadística. Supervivencia global (HR: 0,791, IC 95%: 0,3973-1,1575; $p=0,504$) (Tabla 9,11).

La diferencia de supervivencia libre de enfermedad es mucho mayor para los pacientes con enfermedad inicialmente resecable (21 meses vs 12 meses; $p=0,095$), aunque sin alcanzar la significación estadística (Figura 29) (Tabla 11). Supervivencia libre de enfermedad (HR: 0,5391, 0,2577-1,127; $p=0,101$).

La resección de la tumoración colo-rectal y de la enfermedad metastásica hepática, se ha realizado en dos tiempos mediante un abordaje clásico en 47 pacientes (82,3%), y en un tiempo en 9 pacientes (16%) (Tabla 2). Se han estimado las medianas de supervivencia en

ambos grupos de pacientes mediante las curvas de Kaplan Meier, y se ha observado una supervivencia global inferior en los pacientes intervenidos en un tiempo quirúrgico (mediana de supervivencia 29 meses vs 62 meses; $p=0,072$), y una supervivencia libre de enfermedad también inferior en los pacientes intervenidos de forma sincrónica (mediana de supervivencia 14 meses vs 19 meses; $p=0,32$) (Figura 11) (Tabla 11), aunque sin alcanzar una diferencia estadísticamente significativa ni para la supervivencia global (HR: 2,028, IC 95%: 0,9204-4,467; $p=0,0794$), ni para la supervivencia libre de enfermedad (HR: 1,511, IC 95%: 0,658-3,647; $p=0,331$) (Tabla 9,10). Es probable que la explicación a estas diferencias existentes, aunque no significativas, en las medianas de supervivencia, se deban a que sólo tres pacientes de los nueve sometidos a la resección sincrónica hayan recibido quimioterapia neoadyuvante.

En varios metaanálisis publicados al respecto, se ha observado que la resección en un tiempo quirúrgico del cáncer colorrectal y de las metástasis hepáticas tiene la misma morbilidad, la misma estancia post-operatoria y la misma supervivencia que cuando la resección se lleva a cabo en dos tiempos. Ello implica que en los pacientes que puedan tolerar una cirugía que englobe ambos procedimientos, el tratamiento sincrónico es una buena estrategia terapéutica[206, 207]. Yin et al, en un metaanálisis publicado en el año 2013, determinaron los criterios de selección de los pacientes candidatos a una cirugía en un tiempo: resección de un máximo de tres segmentos hepáticos, hemicolectomía derecha, pacientes jóvenes de menos de 70 años y sin comorbilidades asociadas importantes[208].

En un metaanálisis realizado por Kelly et al, en el que se analizaron grupos de pacientes en los que se contemplaron las tres opciones terapéuticas, el grupo en el que se realizó una resección hepática en primer lugar tenía una mayor carga metastásica con afectación bilobar y múltiple; ello es lógico, porque hay un gran número de pacientes en los que en el momento del diagnóstico la resección de la enfermedad hepática no es técnicamente posible y el tumor primario es asintomático, por lo que los pacientes no son intervenidos ni del tumor primario ni de la enfermedad metastásica por lo que reciben únicamente tratamiento con quimioterapia; en un determinado momento algunos de

estos pacientes presentan una disminución importante de la enfermedad hepática y es en ese momento cuando se plantea la resección de dicha enfermedad para evitar su progresión. No se han observado diferencias significativas en relación a la supervivencia global ni a la supervivencia libre de enfermedad cuando se comparan los tres tratamientos, por ello, la indicación del tratamiento inverso se suele reservar para pacientes muy seleccionados en los que el riesgo de progresión de la enfermedad hepática es superior al riesgo de complicaciones producidas por el tumor primario[77].

4.7 ENFERMEDAD EXTRAHEPÁTICA

La presencia de enfermedad extrahepática se ha considerado durante mucho tiempo una contraindicación para la resección de las metástasis hepáticas de origen colo-rectal, sin embargo, se han publicado numerosos artículos en los que se ha observado un incremento de la supervivencia en pacientes tras la resección de las metástasis hepáticas y de la enfermedad extrahepática, lo que ha hecho reconsiderar esta teoría[209]. El principal objetivo del tratamiento del cáncer de colon metastásico es la eliminación durante el máximo tiempo posible de toda la enfermedad para aumentar la supervivencia de los pacientes. La localización más frecuente de las metástasis fuera del hígado es el pulmón. No es infrecuente el diagnóstico de pacientes con cáncer de colon con metástasis hepáticas y pulmonares sincrónicas, sin embargo, el tratamiento idóneo en esta situación es controvertido[210]. En una revisión sistemática publicada por Hwang et al, se ha analizado la supervivencia de los pacientes con cáncer colo-rectal estadio IV con enfermedad extrahepática y se ha observado que la afectación extrahepática con un mejor pronóstico es la pulmonar[211]. Existen publicaciones en las que se ha observado un importante aumento de la supervivencia cuando se realiza un tratamiento agresivo con resección de toda la enfermedad metastásica (supervivencia global media de 24 meses). Los registros más amplios publicados son los pertenecientes a MD Andersen y a LiverMetSurvey[212, 213]; en dichos registros se ha observado únicamente un aumento de la misma en los pacientes en los que se realizó la resección de toda la enfermedad metastásica hepática

y extrahepática. Por ello, la presencia de enfermedad metastásica pulmonar resecable no contraindica la resección de la enfermedad hepática.

En la nuestra serie, 9 pacientes (16%) han tenido enfermedad metastásica hepática y pulmonar de forma sincrónica o metacrónica y se ha realizado una resección R0 de la enfermedad tanto hepática como pulmonar (Tabla 1). En este grupo de pacientes no se ha observado diferencias significativas de supervivencia global con respecto a los pacientes sin metástasis pulmonares (mediana de supervivencia global 68 meses vs 53 meses, $p=0,8$); HR: 1,09, IC 95%: 0,5029-2,362; $p=0,827$ (Tabla 9,11).

Y tampoco se han observado diferencias significativas en relación a la supervivencia libre de enfermedad con respecto a los pacientes sin enfermedad metastásica pulmonar (mediana de supervivencia libre de enfermedad 19 meses vs 19 meses, $p=0,8$), HR: 1,636, IC 95%: 0,7029-3,806; $p=254$) (Tabla 10,11).

16 pacientes (28,5%) han desarrollado enfermedad metastásica pulmonar no resecable temprana (en los primeros doce meses) y 22 pacientes (39,2%), la han desarrollado de forma tardía (a partir de los doce meses), en total 38 pacientes de la serie han sufrido enfermedad metastásica pulmonar no resecable (67,8%) (Tabla 8), y ello, ha influido significativamente en la supervivencia global de los pacientes: HR: 2,489, IC: 95%: 1,327-4,666; $p=0,00447$ (mediana de SV global en pacientes con metástasis pulmonares 45 meses vs 101 meses, $p=0,0034$) (Tabla 9,11) (Figura 16). Sin embargo, en el análisis multivariante realizado mediante regresión de Cox, la variable recidiva pulmonar no ha alcanzado la significación estadística, aunque sea clínicamente muy relevante ($p=0,443$) (Figura 41).

Lida et al, han publicado un estudio en el que se identificaron una serie de factores pronósticos de supervivencia tras la resección de la enfermedad metastásica: tamaño tumoral, número de metástasis, CEA preoperatoria, infiltración ganglionar y, resección quirúrgica completa de la enfermedad. Rajakannu et al, defienden en un estudio que es posible conseguir la curación de los pacientes con metástasis hepáticas

y pulmonares, siempre que exista una correcta selección de los mismos, con un tratamiento quirúrgico y quimioterápico agresivo. De hecho, la supervivencia a 5 y 10 años observada en su estudio fue del 60% y del 35% respectivamente. Los factores de riesgo de supervivencia fueron en este trabajo un valor de CEA pre-resección pulmonar $>100\text{ng/mL}$, un CA 19-9 $>37\text{ U/mL}$ y, un intervalo de tiempo entre la resección hepática y pulmonar inferior a 24 meses[214].

En el trabajo publicado por Andres et al, se ha estudiado la supervivencia global a 5 años de los pacientes con enfermedad metastásica hepática y pulmonar, observando que en los pacientes con enfermedad localizada únicamente a nivel hepático y, en los pacientes con enfermedad hepática y pulmonar, la supervivencia fue similar siempre que se realizase la resección de toda la enfermedad metastásica (51,4% y 44,5% respectivamente), y significativamente superior a la de los pacientes en los que teniendo enfermedad en varias localizaciones únicamente se llevó a cabo la resección de la enfermedad hepática (14,3%) ($p=0,001$). Lo que demuestra que la presencia de metástasis pulmonares no resecadas o no resecables es un factor pronóstico muy importante y que siempre se ha de plantear la resección de la enfermedad metastásica de forma global[212].

4.8 TRATAMIENTO QUIMIOTERÁPICO

El único tratamiento potencialmente curativo es la resección del tumor primario y de la enfermedad metastásica. Hasta la década de los años noventa el tratamiento quimioterápico para el cáncer de colon estadio IV consistía en la administración de 5-fluoracilo y leucovorín, con una tasa de respuesta de aproximadamente del 25% y una supervivencia media de los pacientes de aproximadamente 12 meses. En los últimos años ha habido una evolución y una expansión muy importante en el tratamiento quimioterápico, los nuevos protocolos de tratamiento del cáncer colo-rectal avanzado se basan en la administración de oxaliplatino e irinotecan. El objetivo de la quimioterapia perioperatoria es la disminución de la carga tumoral metastásica y de la posibilidad de recidiva. No existe todavía suficiente evidencia científica en relación al

tratamiento quimioterápico perioperatorio de los pacientes con metástasis hepáticas potencialmente resecables[215, 216].

4.8.1 Tratamiento quimioterápico adyuvante.

En dos ensayos clínicos randomizados fase III se ha comparado la administración de quimioterapia sistémica con 5FU/LV tras la resección de las metástasis hepáticas frente a la realización de cirugía sin administración de quimioterapia a posteriori. En el estudio francés se observó una supervivencia libre de enfermedad a los 5 años superior (26,7vs 33,5%, $p=0,0028$). En el ensayo ENG (EORTC/NCI-CTG/GIVIO), también se observó una supervivencia libre de enfermedad y una supervivencia global a los 5 años superior, aunque sin una diferencia estadísticamente significativa (media 39 vs 20 meses, $p=0,35$; media 53 vs 43 meses, $p=0,39$ respectivamente). El análisis combinado de ambos estudios ($n=278$ pacientes) ha mostrado una prolongación no significativa de la supervivencia libre de enfermedad de 18,8 meses a 27,9 meses ($p=0,058$) y de la supervivencia global de 47,3 a 62,2 meses ($p=0,095$).

La intensificación del tratamiento quimioterápico post-operatorio añadiendo irinotecan a 5FU/LV se ha estudiado en un ensayo clínico fase III y no ha revelado un beneficio adicional en la supervivencia libre de enfermedad (21,6 vs 24,7 meses, $p=0,47$) ni en la supervivencia global a los 3 años (71,6 vs 72,7%, $p=0,69$).

El ensayo clínico alemán HEPATICA en el que se empleó un tratamiento post-operatorio con capecitabina y oxaliplatino durante 6 meses y bevacizumab durante 12 meses demostró un beneficio en la supervivencia libre de enfermedad a los años (50 vs 72 meses, $p=0,074$). Sin embargo, los datos de dicho estudio han de ser analizados cuidadosamente dado el pequeño número de pacientes reclutados.

Existen diferentes opciones de tratamiento como primera línea en las metástasis hepáticas de origen colo-rectal: fluoropirimidinas, irinotecan, oxaliplatino, bevacizumab, cetuximab y panitumumab.

Se han realizado una gran cantidad de ensayos clínicos donde se ha evaluado la eficacia de bevacizumab administrado como primera línea de tratamiento. La administración de bevacizumab con 5FU e irinotecan, ha aumentado significativamente la respuesta al tratamiento,

aumentando la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad. El estudio NO16966 fue diseñado inicialmente para demostrar la no inferioridad de la línea de tratamiento XELOX frente a FOLFOX 4, pero como consecuencia de los resultados descritos previamente se añadió bevacizumab a ambos brazos de tratamiento. Se observó en dicho estudio que la respuesta al tratamiento fue similar en ambos brazos, sin embargo, la supervivencia libre de progresión fue significativamente mayor en el grupo con bevacizumab (9,4 vs 8 meses, HR 0,83, $p=0,00023$). Diferentes ensayos clínicos fase IIIb/IV (First BEAT, BriTE) han confirmado la seguridad de la administración de bevacizumab como primera línea de tratamiento en los pacientes que reciben FOLFOX, XELOS, FOLFIRI, o capecitabina.

En nuestra serie han recibido quimioterapia adyuvante 35 pacientes (58,9%), la media de líneas de tratamiento adyuvante ha sido de 1,69 (DS 1,27), el número medio de ciclos de tratamiento adyuvante recibidos por los pacientes ha sido de 7,52 (DS 6,9); de ellos, 30 recibieron una línea de tratamiento con oxaliplatino (90,9%), y 22 pacientes una línea de tratamiento con irinotecan (66,6%). Han recibido cetuximab adyuvante 7 pacientes (21,2%), bevacizumab adyuvante 8 pacientes (24,2%) y panitumumab adyuvante 2 pacientes (6%). En el grupo de pacientes con metástasis hepáticas metacrónicas ($n=20$ pacientes) 16 han recibido quimioterapia adyuvante (80%) (Tabla 7).

No se han observado diferencias significativas en la supervivencia global entre los pacientes que han recibido Quimioterapia adyuvante a la hepatectomía y los que no (mediana de supervivencia 56 meses vs 51 meses; $p=0,53$). HR: 1,163, IC 95%: 0,5378-2,513; 0,702 (Tabla 9,11).

Tampoco se han observado diferencias significativas en relación a la supervivencia libre de enfermedad entre los pacientes que han recibido Quimioterapia adyuvante a la hepatectomía y los que no (mediana de supervivencia 19 meses vs 18 meses; $p=0,7$). HR: 1,512, IC: 95%: 0,5863-3,897; $p=0,393$ (Tabla 10,11).

4.8.2 Tratamiento quimioterápico neoadyuvante

La quimioterapia neoadyuvante puede reducir la enfermedad metastásica, es más, es posible una respuesta favorable en pacientes con enfermedad metastásica inicialmente irresecable, ofreciendo una ventana terapéutica para la realización de una cirugía radical de la enfermedad.

El estudio EORTC 40983 incluyó a 364 pacientes que fueron randomizados en dos brazos de tratamiento: cirugía vs quimioterapia con 5-FU/LV y oxaliplatino (terapia FOLFOX 4) administrada 3 meses antes y 3 meses después de la cirugía. Todos los pacientes tenían un máximo de cuatro metástasis hepáticas técnicamente resecables (valoradas por TC) y no habían recibido previamente tratamiento quimioterápico. A pesar de tratarse de pacientes con características a priori claramente favorables, donde el 80% de los pacientes no tenía más de 2 lesiones metastásicas, y de realizarse una cirugía R0 en centros de referencia, la supervivencia libre de enfermedad a los 3 años fue relativamente baja. En el grupo de pacientes (n=171) que recibieron tratamiento quimioterápico, la supervivencia libre de enfermedad a los 3 años fue significativamente mayor que en el grupo que no recibió quimioterapia (33,2% vs 42,4%, HR 0,73 IC 95% 0,55 a 0,97). No hubo toxicidades inusuales en el brazo de quimioterapia, y el 80 % de los pacientes recibieron un tratamiento completo preoperatorio. Tras la cirugía el 76% de los pacientes recibieron quimioterapia con 6 ciclos de tratamiento.

En otro ensayo clínico fase II, en el que en el brazo de tratamiento quimioterápico perio-operatorio se empleó oxaliplatino, capecitabina y bevacizumab como tratamiento neoadyuvante en 100 pacientes con enfermedad metastásica potencialmente resecable, pero en la que hubiera sido muy difícil obtener una resección R0, se observó una respuesta en el 78% de los pacientes y un porcentaje de resección R0 en el 40% de los pacientes.

En los pacientes con metástasis hepáticas resecables se puede considerar la administración de quimioterapia neoadyuvante para tratar las micrometástasis, reducir el volumen tumoral facilitando una resección quirúrgica radical R0, e identificar a aquellos pacientes en los que la enfermedad progresa a pesar del tratamiento y, por tanto, no se

beneficiarían de una resección hepática, al menos sin intentar previamente otra línea nueva de tratamiento quimioterápico. No obstante, se pueden producir efectos adversos, un aumento considerable de las complicaciones post-operatorias, además de la posibilidad de que se produzca la desaparición de las lesiones metastásicas, lo cual dificultaría mucho su posterior identificación y resección quirúrgica. Los dos efectos adversos relacionados con el empleo de quimioterapia son el síndrome de obstrucción sinusoidal (SOS) asociado al oxaliplatino y, la esteatohepatitis asociada al empleo de irinotecan (CASH). El 5-Fluoracilo se ha relacionado con ambas complicaciones, aunque con una incidencia menor. El número de ciclos administrados de oxaliplatino influye significativamente en el desarrollo del síndrome de obstrucción sinusoidal pero no en el grado de severidad. La importancia de dicho síndrome reside en que en los pacientes que son sometidos a una hepatectomía mayor el riesgo de complicaciones es mayor, aunque no está demostrada un aumento de la mortalidad. Existen estudios que sugieren que la activación del factor de crecimiento del endotelio vascular y la vía de la coagulación permiten el desarrollo del síndrome de obstrucción sinusoidal, de hecho, la administración de bevacizumab y aspirina podría prevenir el desarrollo del mismo. El bevacizumab produce un retraso en la cicatrización tisular por lo que se debe interrumpir su administración entre 6 y 8 semanas antes de la cirugía. Existe un pequeño número de estudios en los que se ha observado que la administración concomitante de cetuximab (anticuerpo anti-factor de crecimiento epidérmico) provoca la regresión del síndrome de obstrucción sinusoidal y de la fibrosis hepática. Este efecto en la regeneración hepática todavía no se ha estudiado en profundidad. La esteatosis y la esteatohepatitis se relacionan con un incremento de la morbilidad tras la realización de una hepatectomía, debido al riesgo de insuficiencia hepatocelular, fundamentalmente en los pacientes con un IMC superior a 35 Kg/m².

En una revisión sistemática publicada por Nigri et al, no se demostraron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia entre los pacientes que recibieron quimioterapia pre-operatoria y los que únicamente fueron sometidos a la resección de las metástasis hepáticas. Existe un estudio publicado en el que se ha observado una

supervivencia mayor en pacientes a los que se les administró un tratamiento quimioterápico neoadyuvante; se trataba de una muestra de pacientes con una gran carga metastásica (más de 5 metástasis, enfermedad bilobar). En el estudio multicéntrico realizado por la sociedad europea para la investigación del cáncer (EORTC) con un seguimiento medio de 8,5 años se observó que la administración pre y post-operatoria de quimioterapia (FOLFOX 4: ácido folínico, fluoracilo y oxaliplatino) no aumentó la supervivencia.

En un ensayo clínico fase II publicado recientemente se ha observado en el grupo de pacientes tratados con FOLFOXIRI y bevacizumab una tasa de respuesta del 80%, y la realización de una cirugía R0 en el 40% de los pacientes. La supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global fue de 13,1 meses y de 30,9 meses respectivamente. El tratamiento fue bien tolerado por el 50% de los pacientes. Se han obtenido resultados similares otros ensayos fase III en los que se comparó FOLFIRI y bevacizumab con o sin la administración de oxaliplatino. Se han realizado ensayos clínicos en los que se ha evaluado la eficacia de la administración de 5FU o capecitabina, irinotecan y oxaliplatino. En el ensayo italiano FOLFOXIRI se obtuvieron buenos resultados al comparar dicho tratamiento con FOLFIRI en un estudio fase III; se observó una mayor respuesta al tratamiento (34 vs 60%, $p<0,001$), una mayor supervivencia libre de progresión (6,9 vs 9,8 meses, $p=0,006$) y una mayor supervivencia global (16,7 vs 22,6 meses, $p=0,032$). Obteniendo además un aumento del porcentaje de resección R0 cuando se ha administrado de forma neoadyuvante (6% vs 15%, $p=0,0033$).

En la actualidad no existen datos suficientes para indicar la quimioterapia neoadyuvante como tratamiento estándar en los pacientes con metástasis hepáticas inicialmente resecables, pero el hecho de que permita conocer mejor el comportamiento del cáncer evaluando la respuesta a la quimioterapia, justifica su empleo de forma racional seleccionando a determinados pacientes, no recomendándose su administración por un tiempo superior a 3 meses, ni más de 6 ciclos.

En nuestra serie, han recibido tratamiento quimioterápico neoadyuvante a la cirugía hepática 43 pacientes, es decir, un 76,8% del

total de los pacientes incluídos en el estudio (n=56). El número medio de líneas de tratamiento neoadyuvante ha sido de 1,09 (DS 0,48 líneas), el número medio de ciclos de tratamiento recibidos ha sido de 5,24 (DS 3,36 ciclos). En alguna de las líneas de tratamiento neoadyuvante el 65,1% de los pacientes (n=28) han recibido tratamiento con Oxaliplatino, el 34,8% de los pacientes (n=15) han recibido tratamiento con Irinotecan, el 5,3% de los pacientes (n=3) han recibido tratamiento con Bevacizumab y por último, el 17,8% de los pacientes (n=10) han recibido tratamiento con cetuximab. La mayoría de pacientes recibieron una única línea de tratamiento neoadyuvante con quimioterapia (30 pacientes, 69,7%). Los pacientes tratados con una única línea de tratamiento quimioterápico recibieron una media de 4,2 ciclos (DS 1,6). En el caso de los pacientes tratados con dos líneas de quimioterapia (5 pacientes), el número medio de ciclos recibido fue de 7,6 (DS 2,3), por último, en los pacientes tratados con 3 o más líneas de quimioterapia (8 pacientes) el número medio de ciclos recibido fue de 19,5 (DS 6,9). El número medio de ciclos recibidos en la última línea de tratamiento ha sido de 4,16 ciclos (DS 3,05 ciclos). Han recibido en la última línea de tratamiento neoadyuvante oxaliplatino 14 pacientes (32,3%), irinotecan 10 pacientes (23,2%), cetuximab 3 pacientes (6,9%) y bevacizumab 6 pacientes (13,9%) (Tabla 7).

La mediana de supervivencia global es inferior en los pacientes que han recibido tratamiento neoadyuvante (56 meses vs 116 meses, $p=0,099$) (Figura 11). HR: 1,904, IC 95%: 0,8789-4,123; $p=0,103$; aunque sin observarse una diferencia significativa (Tabla 9,11). Probablemente la supervivencia de los pacientes que reciben quimioterapia previa a la resección hepática, sea inferior, porque son pacientes con un mayor número de metástasis, con lesiones más grandes y de localización bilateral.

No se han observado diferencias significativas de supervivencia global en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con

oxaliplatino (mediana de supervivencia 50 meses vs 56 meses, $p=0,61$). HR: 1,52, IC 95%: 0,8315-2,779; $p=0,174$ (Tabla 9,11).

No se han observado diferencias significativas de supervivencia global en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con irinotecan (mediana de supervivencia 46 meses vs 56 meses, $p=0,17$). HR: 1,211, IC 95%: 0,6081-2,412, $p=0,586$ (Tabla 9,11).

No se han observado diferencias significativas de supervivencia global en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con cetuximab (mediana de supervivencia 32 meses vs 56 meses, $p=0,15$). HR: 2,446, IC 95%: 0,7371-8,118; $p=0,144$ (Tabla 9,11).

Y tampoco se han observado diferencias significativas de supervivencia global en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con bevacizumab (mediana de supervivencia 60 meses vs 56 meses, $p=0,86$). HR: 1,068, IC 95%: 0,4717-2,418; $p=0,875$ (Tabla 9,11).

No ha habido diferencias en la supervivencia global de los pacientes que han recibido quimioterapia neoadyuvante en relación al número de líneas de tratamiento recibidas (HR: 1,333, IC: 0,6655-2,669 ; $p=0,418$), ni al número de ciclos recibidos (HR: 0,9773, IC: 95%: 0,8971-1,065; $p=0,599$). (Tabla 9,11)

La mediana de supervivencia libre de enfermedad es significativamente inferior en los pacientes que han recibido tratamiento neoadyuvante (15 meses vs 36 meses, $p=0,012$) (Figura 36). HR: 3,158, IC 95%: 1,22-8,178; $p=0,0178$ (Tabla 10,11). Probablemente la supervivencia de los pacientes que reciben quimioterapia previa a la resección hepática, sea inferior, porque son pacientes con un mayor número de metástasis, con lesiones más grandes y de localización bilateral.

No se han observado diferencias significativas de supervivencia libre de enfermedad en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con oxaliplatino (mediana de supervivencia 16 meses vs 24 meses, $p=0,44$) (Figura 31). HR: 1,298, IC: 95%: 0,6682-2,522; $p=0,441$ (Tabla 10,11).

Se han observado diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con irinotecan (mediana de supervivencia 12 meses vs 30 meses, $p=0.023$) (Figura 37). HR: 2,251, IC 95: 1,11-4,566; $p=0,0245$ (Tabla 10,11). De tal forma, que los pacientes que han recibido Irinotecan como tratamiento neoadyuvante han tenido una supervivencia peor.

No se han observado diferencias significativas de supervivencia libre de enfermedad en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con cetuximab (mediana de supervivencia 21 meses vs 19 meses, $p=0.45$). HR: 1,711, IC: 0,405-7,227; $p=0,465$ (Tabla 10,11).

Se ha observado una menor supervivencia libre de enfermedad en los pacientes que han recibido neoadyuvancia con bevacizumab (mediana de supervivencia 11 meses vs 21 meses, $p=0.16$) (Figura 32). HR: 1,813, IC 95%: 0,786-4,183; $p=0,163$ (Tabla 10,11). Sin embargo, aunque en la curva de supervivencia la diferencia es evidente, no ha alcanzado la significación estadística. Aunque se trata de una serie muy pequeña de pacientes, este dato podría ser clínicamente relevante. No ha habido diferencias en la supervivencia global de los pacientes que han recibido quimioterapia neoadyuvante en relación al número de líneas de tratamiento recibidas (HR: 2,034, IC 95%:0,9908-4,176; $p=0,053$), ni al número de ciclos recibidos (HR: 1,027, IC 95%:0,9439-1,118; $p=0,534$) (Tabla 9).

En 3 pacientes se observó una respuesta radiológica completa al tratamiento quimioterápico neoadyuvante (6,9%), en 25 pacientes una respuesta radiológica parcial (58,1%), y en 15 pacientes una estabilización en cuanto al número y tamaño de la metástasis (34,8%). Ninguno de los pacientes incluidos en el estudio tuvo una progresión de la enfermedad con el tratamiento neoadyuvante, porque en ese caso no hubiera estado indicada la resección de la enfermedad metastásica, ni hepática ni extrahepática (Tabla 7).

No se han observado diferencias en cuanto a la supervivencia global en relación a los pacientes con una respuesta radiológica completa al tratamiento quimioterápico (mediana 60 meses vs 56

meses, $p=0,57$). HR: 1,399, IC 95%: 0,4297-4,554; $p=0,577$ (Tabla 9,11). Y tampoco se ha observado diferencias significativas en relación a la supervivencia libre de enfermedad (19 vs 19; $p=0,99$). HR: 1,024, IC 95%: 0,2456-4,272; $p=0,974$ (Tabla 10,11). Cabría esperar una supervivencia mayor, porque es un aspecto significativo en la mayoría de publicaciones existentes al respecto, es probable que el hecho de que el número de pacientes de la serie sea tan limitado no contribuya a que se obtenga un resultado significativo.

Al analizar los resultados en relación a la supervivencia global y libre de enfermedad en los pacientes con una respuesta parcial al tratamiento quimioterápica neoadyuvante, los resultados son superponibles: Supervivencia global (mediana 20 meses vs 23 meses, $p=1$). Supervivencia libre de enfermedad (mediana 17 meses vs 19 meses, $p=1$) (Tabla 11).

En el contexto de una enfermedad hepática irresecable, la quimioterapia representa la única opción inicial de tratamiento y tiene como objetivo aumentar la supervivencia y mejorar la calidad de vida de los pacientes, no obstante, existe un porcentaje importante de pacientes en los que se produce una muy buena respuesta al tratamiento y se convierten en pacientes con lesiones potencialmente resecables. Existen múltiples trabajos publicados en los que se han evaluado los resultados en este grupo de pacientes, y se ha observado una supervivencia media a los cinco años del 33%. Beppu et al, han publicado una serie de factores que se asocian a la conversión a resecabilidad tras el tratamiento quimioterápico neoadyuvante: cáncer de colon izquierdo o cáncer de recto, lesiones metastásicas H1/H2 según la clasificación de la sociedad japonesa de coloproctología (H1: ≤ 4 lesiones con un tamaño ≤ 5 cm, H3: ≥ 5 lesiones con un tamaño superior a 5 cm, H2: lesiones ni H1 ni H3), ausencia de enfermedad extrahepática, y respuesta favorable a la quimioterapia. Según este autor, los pacientes con dichos criterios han de ser sometidos a un tratamiento quimioterápico más completo, con la intención de conseguir la resección de la enfermedad, más que un beneficio paliativo.

4.9 RESULTADOS A LARGO PLAZO. SUPERVIVENCIA GLOBAL. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

Se considera “curación del paciente”, cuando el paciente está libre de la enfermedad tras los primeros cinco años después de la finalización del tratamiento. En el estudio multivariante realizado por Imai et al, se ha observado la curación en el 19% de los pacientes gracias a un tratamiento multidisciplinar, que consiste en la administración de quimioterapia perioperatoria, en la resección de toda la enfermedad metastásica hepática y extrahepática existente y, en la realización de una re-hepatectomía en los casos de recidiva de la enfermedad. Además, se han identificado en los pacientes con metástasis hepáticas y pulmonares de origen colorrectal los siguientes factores predictivos independientes de curación: T1-T2 (HR 22.2, $p=0,03$), N0 (HR 4.42, $p=0.031$), metástasis metacrónicas (RR H.48, $p=0.013$) y, Ca 19.9 <37 U/mL (HR 27.4, $p=0,012$)[217].

Se ha intentado desarrollar un modelo preoperatorio para predecir el pronóstico de los pacientes que van a ser sometidos a una hepatectomía para la resección de metástasis hepáticas de origen colo-rectal, con el objetivo de identificar a aquellos con un máximo beneficio y a aquellos a los que vayamos a perjudicar con dicho procedimiento. Existen múltiples modelos predictivos como son el de Nordlinger, Nagashima, Konopke, Ress, Iwatsuki, Zakari[218-221], Leed, Ueno, Schindl y Lise[60, 222-224].

El modelo pronóstico de Glasgow (GPS) se ha empleado para la predicción del pronóstico en diferentes cánceres. Inicialmente incluía dos factores: proteína C reactiva > 10 mg/L y una albúmina <35 g/L. La ausencia de ambos factores tiene un valor de 0, y la presencia de uno o de los dos factores tiene un valor de 1 o de 2 respectivamente. Este modelo fue posteriormente modificado (mGPS), de tal forma que la existencia de hipoalbuminemia en ausencia de la elevación de proteína C reactiva se pasó a valorar como 0, debido al hecho demostrado que la hipoalbuminemia por sí misma, no tiene un efecto sobre la supervivencia de los pacientes. Tanto GPS como mGPS han demostrado su utilidad para la predicción de la supervivencia de los pacientes sometidos a una hepatectomía por metástasis de origen colo-rectal[225-229]. Kobayashi et al, han combinado con posterioridad

GPS con los niveles de CEA con el objetivo de seleccionar a los pacientes con un mayor beneficio para una cirugía de la enfermedad metastásica[228].

Fong et al, en un estudio en el que incluyeron a 1000 pacientes, desarrollaron un modelo predictivo de riesgo con cinco variables preoperatorias indicativas de un peor pronóstico: periodo de tiempo libre de enfermedad entre el diagnóstico del tumor primario y de enfermedad metastásica inferior a doce meses, ganglios positivos en el tumor colorectal, más de una lesión hepática, tamaño de las lesiones hepáticas superior a los cinco centímetros, CEA superior a 200 ng/mL. En dicho modelo predictivo, la existencia de menos de dos factores indica un buen pronóstico tras la resección hepática[230].

En nuestra serie, se ha analizado la supervivencia mediante curvas de Kaplan Meier, y se han obtenido los siguientes resultados:

La supervivencia global al año, a los tres años y, a los cinco años fue del 97 %, 70% y del 47%. La supervivencia media fue de 72,04 meses (DS 56,15 meses). La mediana de supervivencia es de 56 meses (Figura 1) (Tabla 11).

La supervivencia libre de enfermedad al año, a los tres años y, a los cinco años fue del 63%, 43% y del 39%. La supervivencia libre de enfermedad media fue de 47,47 meses (DS 56,28 meses). La mediana de supervivencia libre de enfermedad fue de 19 meses (Figura 2) (Tabla 11). A los diez años, el 26 % de los pacientes están vivos y libres de enfermedad.

Se ha realizado un estudio multivariante mediante un modelo de regresión múltiple de COX, donde la variable resultado es cuantitativa (Supervivencia global, Supervivencia libre de enfermedad), y las variables predictoras incluidas en el modelo fueron aquellas con significación estadística ($p < 0,05$) en análisis de regresión lineal simple y, aquellas próximas a la significación; no incluyendo al resto de las variables en dicho modelo.

Se ha desarrollado un modelo multivariante para el análisis de la supervivencia global en el que se han incluido las siguientes variables para las que previamente en el análisis univariante se había obtenido significación estadística: recidiva hepática, $p=0,00019$; recidiva

pulmonar $p=0,00447$; recidiva peritoneal, $p=0,0342$, recidiva de la enfermedad en el primer año, $p=0,0015$; CEA prehepatectomía, $p=0,0203$; CDX2 neoplasia colon, $p=0,0034$; N-cadherina metástasis hepática, $p=0,00019$; CDX2 metástasis hepática, $p=0,019$; CD44 metástasis hepática, $p=0,0197$.

En dicho modelo se han identificado a tres variables independientes estadísticamente significativas y, clínicamente relevantes (Figura 41):

- Recidiva hepática (HR 2,9804, IC 95%: 1,2302-7,2207; $p=0,01557$).
- CDX2 neoplasia de colon (HR 11,8097, IC 95%: 2,18-63,9186; $p=0,00416$).
- CD44 metástasis hepática (HR 0,3979, IC 95%: 0,1604-0,9873; $p=0,04685$).

De la misma forma, se ha desarrollado otro modelo multivariante mediante regresión de Cox, para la valoración de la supervivencia libre de enfermedad; las variables incluidas en dicho modelo son aquellas en las que previamente se habían observado diferencias significativas en el análisis univariante: recidiva hepática, $p=0,0003$; recidiva pulmonar, $p=0,0007$; recidiva peritoneal, $p=0,0023$; QT neoadyuvante a la hepatectomía, $p=0,0178$; FOLFIRI neoadyuvante, $p=0,0245$; recidiva al primer año, $p=0,000$; CEA pre-hepatectomía, $p=0,0029$; CDX2 neoplasia colon, $p=0,0142$; N-cadherina metástasis hepática, $p=0,00514$; CDX2 metástasis hepática, $P=0,0355$; CD44 metástasis hepática, $P=0,0103$; MUC2 metástasis hepática, $p=0,0213$.

Pero de todas ellas, únicamente la expresión de CDX2 en la zona de transición en el margen tumoral en la neoplasia de colon, ha sido clínicamente relevante y ha alcanzado la significación estadística. HR 22,2250, IC 95%: 1,8259-270,526; $p=0,01501$) (Figura 42).

Por todo ello, conforme a dichos modelos, podemos decir que los pacientes con recidiva hepática en cualquier momento de la evolución de su enfermedad tienen una supervivencia global significativamente inferior; a diferencia de los pacientes con ausencia de expresión inmunohistoquímica de CDX2 en el margen tumoral de la neoplasia de colon y, con expresión inmunohistoquímica de CD44 en el margen tumoral de la metástasis hepática que tienen una supervivencia global significativamente superior. Los pacientes con ausencia de expresión inmunohistoquímica de CDX2 en el margen tumoral de la neoplasia de colon tienen una supervivencia libre de enfermedad superior.

4.10 RECURRENCIA DE LA ENFERMEDAD

La resección de las metástasis hepáticas de origen colo-rectal es un tratamiento potencialmente curativo ofreciendo en la mayoría de las series una supervivencia a los cinco años de un 40%. No obstante, la mayoría de los pacientes sufren una recidiva tras su resección, tanto a nivel hepático (70%), como a nivel extrahepático (50%)[231]. La supervivencia de los pacientes ha mejorado en los últimos años debido a un mejor y más agresivo tratamiento de los pacientes con enfermedad avanzada, aceptando cada vez más, un margen de resección más pequeño y una evolución de la técnica hacia una cirugía preservadora de parénquima; lo cual, ha permitido aumentar el número de pacientes que se pueden beneficiar de un tratamiento con intención curativa, pero ha aumentado el riesgo de recidiva precoz. De acuerdo a los estudios publicados, a partir de los cinco años tras la finalización del tratamiento en muchos pacientes se produce la recurrencia de la enfermedad. Por ello, para que un paciente se considere curado, han de pasar al menos 10 años desde la finalización del tratamiento. Aunque es controvertido, el seguimiento clínico, analítico y con pruebas de imagen está justificado dado que la resección de una recidiva aumenta significativamente la supervivencia[232].

En el estudio multicéntrico realizado por Hallet et al, en el que se han incluido 2320 pacientes, se observó un 47% de recurrencia de la enfermedad, en el 90% de los casos ésta se desarrolla en los primeros 3 años de seguimiento. La recidiva fue hepática en el 46 % de los

pacientes, en el 32% de los casos extrahepática y, en el 22% de los casos hepática y extrahepática. Los factores relacionados con el incremento de riesgo de recurrencia en este trabajo han sido la presencia de ganglios positivos en el tumor primario, tres o más metástasis y, un tamaño tumoral superior a 4 cm[233].

Adam et al, observó que si la recidiva se produce en los primeros 8 meses tras la intervención quirúrgica se considerará precoz y tendrá una supervivencia inferior a la de los pacientes con una recidiva tardía, es decir, a partir de los 8 meses. En el estudio realizado por Imai et al, se han identificado cinco factores predictivos de recurrencia precoz de la enfermedad: edad, número de líneas de tratamiento quimioterápico recibido, respuesta a la última línea de tratamiento quimioterápico, número de metástasis y, nivel de CA 19-9[233].

En nuestra serie el tiempo medio de seguimiento fue de 70,09 meses (DS 56,15). 44 pacientes (67,9%) fallecieron, la mayoría como consecuencia de la enfermedad neoplásica. Durante el primer año de seguimiento tras la hepatectomía, se produce la recurrencia de la enfermedad en 24 pacientes (42,9%), durante los siguientes dos años en 15 pacientes (26,7%); y durante los siguientes dos años en 4 pacientes (7,1%). Se ha observado recurrencia temprana hepática (primeros 12 meses tras la hepatectomía) en 6 pacientes (10,7%), recurrencia temprana extrahepática en un paciente (1,8%), recurrencia temprana hepática y extrahepática en 5 pacientes (8,9%), recurrencia tardía hepática (a partir de los doce meses tras la hepatectomía) en 9 pacientes (16%), recurrencia tardía extrahepática en 11 pacientes (19,6%), recurrencia tardía hepática y extrahepática en 12 pacientes (21,4%). La distribución de los lugares de recurrencia fue la siguiente: sólo intrahepática en 15 pacientes (26,7%), sólo extrahepática en 12 pacientes (21,4%), e intra y extrahepática en 17 pacientes (30,3%). En 7 pacientes se realizó una re-hepatectomía (20%), siendo necesaria una hepatectomía mayor en uno de los pacientes con recidiva de la enfermedad; en los demás pacientes con recidiva de la enfermedad únicamente se les pudo ofrecer tratamiento quimioterápico con intención paliativa o tratamiento para el control de síntomas (Tabla 8).

En los pacientes en los que ha habido recidiva hepática de la enfermedad en algún momento de su evolución es evidente una disminución significativa de la supervivencia global (mediana 36 meses vs 118 meses; $p=0,0001$) (Figura 15). HR: 3,558, IC 95%: 1,825-6,938; $p=0,0001$ (Tabla 9,11).

Al igual que en los pacientes que desarrollan enfermedad metastásica pulmonar (mediana 45 meses vs 101 meses, $p=0,0034$) (Figura 16). HR: 2,489, IC 95%: 1,327-4,666; $p=0,00447$ (Tabla 9,11).

Y en los pacientes que desarrollan una carcinomatosis peritoneal (mediana 30 meses vs 66 meses, $p=0,034$) (Figura 17). HR: 2,16, IC 95%: 1,059-4,408; $p=0,0342$ (Tabla 9,11).

Se han dividido a los pacientes en dos grupos en función del momento de desarrollo de la recidiva, se ha considerado una recurrencia temprana a aquella que se produce durante los primeros 12 meses tras la resección de la enfermedad metastásica hepática y, una recurrencia tardía a aquella que se produce a partir de los 12 meses.

Se ha observado que los pacientes que presentan recidiva temprana de la enfermedad a cualquier nivel (hepático, pulmonar, peritoneal), tienen una supervivencia inferior a la de los pacientes con una recidiva tardía. HR: 2,695, IC 95%: 1,461-4,971, $p=0,0015$ (Tabla 9). Sobre todo, en los pacientes que presentaron una recidiva temprana de la enfermedad hepática, con una mediana de supervivencia significativamente inferior (29 meses vs 56 meses, $p=0,026$) (Figura 18). HR: 2,641, IC 95%: 1,076-6,482; $p=0,034$ (Tabla 9,11), y sobre todo en los pacientes con recidiva temprana simultánea hepática y pulmonar, con una mediana de supervivencia significativamente inferior (22 meses vs 58 meses, $p<0,0001$) (Figura 19). HR: 6,468, IC 95%: 2,283-18,33; $p=0,00044$ (Tabla 9,11).

El hecho de poder conocer los factores de riesgo de recurrencia antes de la realización de una hepatectomía no contraindica la realización de la misma, pero si determina la decisión acerca de la administración de

quimioterapia perioperatoria y la duración e intensidad del seguimiento.
[234]

4.11 ANALISIS INMUNOHISTOQUÍMICO EN LA ZONA DE TRANSICIÓN EPITELIO-MESÉNQUIMA DEL MARGEN TUMORAL DE LA NEOPLASIA COLO-RECTAL Y DE LA METÁSTASIS HEPÁTICA

A pesar del desarrollo de nuevas líneas de tratamiento con quimioterapia, no existe a día de hoy ninguna absolutamente efectiva para el tratamiento del cáncer colo-rectal avanzado con metástasis hepáticas. Aunque es indudable la responsabilidad genética en el desarrollo del cáncer, la mayoría de los cánceres colo-rectales son esporádicos y no hereditarios. Las lesiones pre-neoplásicas esporádicas acumulan gradualmente modificaciones genéticas responsables de la proliferación y de la supervivencia celular incontrolada, aumentando su capacidad invasiva y metastásica. Resulta extremadamente interesante conocer los mecanismos que permiten a las células tumorales colo-rectales la adquisición de dichas capacidades.

La característica principal de los tumores malignos es su capacidad para la diseminación y colonización de órganos localizados a distancia del tumor primario, ello implica la activación de una serie de mecanismos celulares. En el cáncer colo-rectal, la zona de transición epitelio-mesénquima constituye un mecanismo fundamental a través del que las células epiteliales adquieren un fenotipo maligno. Se trata de un proceso celular complejo mediante el que las células epiteliales adquieren un fenotipo mesenquimal, con una importancia vital en la progresión tumoral y en el desarrollo de metástasis en diferentes tipos de tumores. Durante este proceso las células tumorales pierden sus uniones intercelulares, su polaridad, y reorganizan la estructura de su citoesqueleto, lo que les permite desarrollar un fenotipo invasivo; dicha zona de transición está regulada por estímulos extracelulares derivados del medio tumoral como son factores de crecimiento, citokinas inflamatorias, hipoxia, etc..., adaptándose a los continuos cambios del medio, y aumentando las posibilidades de metastatizar. La progresión

metastásica es un proceso complejo, se inicia con una invasión local, seguido de una diseminación de células malignas y por último de una re-estabilización epitelial[126].

Se requiere la cooperación de un complejo sistema de señales moleculares, que se dividen en tres grupos: efectores moleculares que ejecutan el programa de la zona de transición epitelio mesénquima, factores de transcripción que coordinan la zona de transición epitelio mesénquima, conocidos como reguladores del núcleo de la zona de transición y, señales extracelulares que activan la zona de transición conocidos como inductores de la zona de transición[147].

La característica más importante de la zona de transición epitelio mesénquima es la disminución de la expresión de E-cadherina, marcador epitelial que es regulado por un grupo de factores de transcripción. Dichos factores incluyen a las familias SNAIL, TWIST y ZEB, que juegan un papel fundamental en la embriogénesis y en el desarrollo de tumores. La regulación de dichos factores se relaciona con la capacidad invasiva, desarrollo de metástasis y progresión de los tumores colo-rectales. Entre dichos inductores se encuentran también MEF2D e HIF-1 α , factores de transcripción, encargados de la transmisión de señales extracelulares con la activación de programas genéticos que controlan dicha zona de transición[235].

Se han descubierto varios microRNAs implicados en el desarrollo de la zona de transición en el cáncer colo-rectal, con diferentes objetivos y pertenecer a cualquiera de los tres grupos de mediadores implicados en la zona de transición: efectores, factores de transcripción e inductores. Entre ellos, las familias miR-200 y miR-34 actúan sobre los factores de transcripción ZEB1, ZEB2, SNAIL y SLUG. Existen otros que actúan sobre E-cadherina e integrina- β 4, etc,...[148].

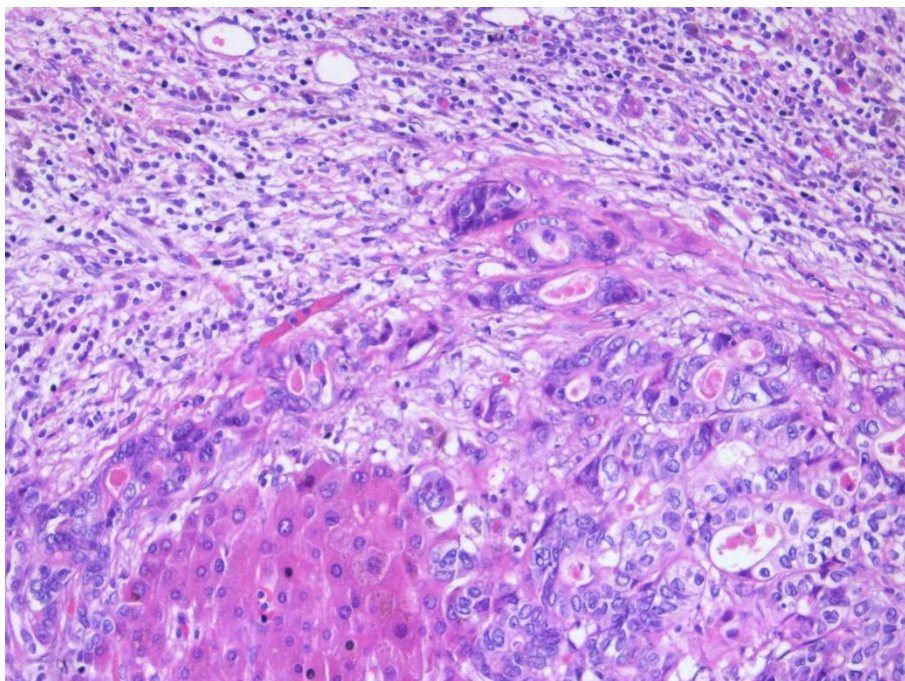


Figura 43: Zona de transición epitelio mesénquima en el margen tumoral de la metástasis hepática del adenocarcinoma colo-rectal.

Se ha demostrado la importancia de las células tumorales circulantes en el desarrollo de metástasis, dichas células funcionan como semillas de la enfermedad metastásica y marcadores para su diagnóstico precoz. Constituyen una población heterogénea de células derivadas del tumor con fenotipos diferentes, adquieren mutaciones en genes clave como son K-RAS o P53, pudiendo ser diferentes a las localizadas en el tumor primario. El análisis de expresión genética revela una pronunciada sobre-expresión de CD47 en las células tumorales circulantes lo que implicaría un potencial mecanismo de escape al sistema inmunológico. Se cree que las células tumorales circulantes con un fenotipo mesenquimal tienen un mayor potencial metastásico, con una pérdida de E-cadherina e hiper-expresión de vimentina. Las células tumorales circulantes vimentina positivas tienen una mayor expresión de reguladores de la zona de transición epitelio mesénquima, como son ZEB2, SNAIL, y SLUG. Existen datos clínicos y experimentales que

revelan que la zona de transición epitelio mesénquima juega un importante papel en la generación de dichas células y que el desarrollo de metástasis depende del mantenimiento de un fenotipo mesenquimal en las células tumorales circulantes. Se han realizado estudios en pacientes con cáncer colo-rectal metastásico en los que se ha demostrado que la inducción de células tumorales circulantes por la zona de transición epitelio mesénquima se puede emplear como marcador pronóstico e indicador de la respuesta terapéutica.

Existen líneas de investigación en el cáncer de colon orientadas al estudio de los diferentes perfiles de expresión genética en los tejidos tumorales, con el objetivo de estratificar a los pacientes en grupos de riesgo con un objetivo clínico evidente, su orientación clínica, diagnóstica y terapéutica. Probablemente los biomarcadores se conviertan en la llave para dicha estratificación, permitiendo por ejemplo, la recomendación o no de la administración de quimioterapia adyuvante en estadios precoces del cáncer de colon. Los genes que participan en el proceso de diferenciación (factores de transcripción relacionados con la regulación de las células madre, mantenimiento del linaje celular, o ambos), se podrían emplear como biomarcadores pronósticos para la estratificación de los tumores en base a la definición molecular de su estado de diferenciación. En la actualidad, el estadio tumoral, el grado tumoral y, la inestabilidad de microsatélites son las variables pronósticas a considerar en los algoritmos de tratamiento de los pacientes con cáncer de colon. Otros factores como son la invasión vascular y perineural por células tumorales parecen prometedores, pero existe todavía dificultad para la estandarización de la técnica debido a los problemas inherentes a su análisis y a su definición objetiva[132].

4.11.1 Cadherinas

El desarrollo de metástasis es un proceso biológico complejo que implica una proliferación celular, invasión, extravasación, angiogénesis tumoral y formación secundaria de nuevas lesiones tumorales. Numerosos estudios han demostrado que todos esos procesos están mediados por múltiples elementos genéticos y epigenéticos, interacciones entre las células y la matriz extracelular, moléculas de adhesión celular, moléculas de degradación de la matriz extracelular, factores de angiogénesis, factores de crecimiento y factores quimiotácticos. [236].

E-cadherina es una molécula de adhesión celular transmembrana que desempeña una función importante en la conservación de la citoarquitectura de los tejidos epiteliales, participando en las uniones intercelulares y en la señalización intracelular, es necesaria para la estabilización tisular, para la diferenciación celular y para la inducción de la zona de transición epitelio mesénquima durante la embriogénesis. β -catenina se une al dominio intracelular de la E-cadherina y a la actina del citoesqueleto, el complejo formado es responsable de la estabilidad celular. La disminución de los niveles de expresión de E-cadherina en células epiteliales es responsable de la pérdida de su fenotipo epitelial, adquiriendo un fenotipo mesenquimal y por lo tanto, una gran capacidad invasiva; proceso conocido como transición epitelio-mesénquima, donde las células epiteliales activadas escapan al sistema de regulación de la adhesión intercelular, pierden su polaridad, adquieren un fenotipo mesenquimal con una reducción de las interacciones intercelulares y un incremento de la capacidad de migración [136]. Las características que definen un fenotipo mesenquimal son la expresión de Vimentina, α -SMA, fibronectina y, N-cadherina. Los eventos relacionados con la zona de transición epitelio mesénquima se observan en los cánceres colo-rectales, esofágicos, gástricos, ováricos y mamarios[149].

La expresión inapropiada de cadherinas no epiteliales, como la N-cadherina, en lugar de E-cadherina, es responsable de la adquisición de fenotipos invasivos y metastásicos. La alta expresión de N-cadherina sustituyendo a la expresión de E-cadherina, se conoce como “cadherin switching”. Varios estudios sugieren que la expresión anómala de N-

cadherina podría servir como un marcador de malignidad en el cáncer de mama, en el cáncer de colon y, en el cáncer de estómago, aunque su nivel de expresión sea bajo. Durante la transición epitelio mesénquima, se pierde la polaridad celular y se interrumpen las uniones intercelulares por disminución de la expresión de estas moléculas de adhesión, generalmente de E-cadherina. En algunas neoplasias la expresión de E-cadherina disminuye o se pierde, asociándose a un aumento de la expresión de N-cadherina. Durante este proceso se libera β -catenina en su forma no fosforilada al citoplasma, formando un complejo con Tcf/LEF que se traslada al núcleo y actúa como un factor de transcripción de varios genes que participan en procesos como son: la reparación del ADN, el crecimiento y la proliferación celular. La pérdida de E-cadherina induce la expresión de c-jun en los melanomas; así como la expresión de N-cadherina por falta del control negativo de la expresión de NF-KabbaB. La mayor parte de las alteraciones morfológicas y la pérdida en la estructura de los tejidos son el resultado de la expresión ectópica o alterada de las cadherinas. La expresión de E-cadherina está regulada por varios factores como son la hipermetilación de su promotor, las modificaciones postranscripcionales y la inhibición de los factores de transcripción. Estudios actuales indican que E-cadherina es una molécula implicada en la adhesión celular, su grado de expresión se ha relacionado con la invasión tumoral en numerosas neoplasias, incluido el cáncer colorectal. El significado pronóstico de la expresión de E-cadherina y de los mecanismos moleculares por los que está implicada en el crecimiento y en el desarrollo de metástasis todavía no se conocen[129, 136].

El déficit de adhesión mediado por cadherinas es una de las principales características de las células tumorales, contribuyendo a un aumento de su motilidad y de su proliferación con un carácter invasivo y metastásico. La falta de los complejos proteicos de adhesión celular en los tumores primarios permite la liberación de las células tumorales, para más tarde invadir los tejidos adyacentes a través de los ganglios linfáticos y de los vasos sanguíneos, proliferando en dichos tejidos. La expresión de las cadherinas en los diferentes tipos de cáncer es variable, E-cadherina se expresa fundamentalmente en tumores de colon, estómago, mama, piel, vejiga urinaria, pulmón, tiroides y cáncer de

ovario; mientras que la expresión de N-cadherina está presente en tumores de origen meso-dérmico y neuroectodérmico como son los mesoteliomas pleurales, los astrocitomas, los glioblastomas y los rabdomiosarcomas[135].

Se ha demostrado que la pérdida de la adhesión mediada por E-cadherina se correlaciona con un incremento de invasión y metástasis en diversos cánceres humanos. Un ejemplo es el cáncer gástrico, donde se observa una disminución en la expresión de la E-cadherina en el 70% de los carcinomas infiltrantes y poco diferenciados. Un individuo con una mutación que condiciona la pérdida de función de E-cadherina desarrolla tumores malignos y metástasis. La mayor parte de las displasias epiteliales muestran una disminución de la expresión de E-cadherina[128, 237].

Uno de los hallazgos más importantes en la zona de transición epitelio mesénquima de acuerdo a Brabletz et al, es la pérdida de las características epiteliales de las células en el frente de invasión tumoral, que se caracteriza por la pérdida de E-cadherina y por la expresión de Vimentina. Yun et al, han observado que la ausencia de expresión de E-cadherina en las células tumorales de los cánceres colo-rectales estadio III, afecta de forma significativa a la supervivencia libre de enfermedad. Sin embargo, alteraciones en la expresión inmunohistoquímica de fibronectina, vimentina y, α -SMA, no se correlacionaron significativamente con la supervivencia global ni con la supervivencia libre de enfermedad[238].

En estudios previos se ha demostrado una correlación entre la reducción de la expresión de E-cadherina y un peor pronóstico en relación al grado de diferenciación tumoral, a la existencia de ganglios linfáticos, y a una menor supervivencia. Por ello, podría considerarse como un potencial marcador pronóstico[130].

Sin embargo, en nuestro estudio en las gráficas de supervivencia asociadas a la expresión inmunohistoquímica de cadherinas, únicamente se ha observado ausencia de expresión de E-cadherina en la zona de transición del margen tumoral en dos pacientes, tanto en la neoplasia de colon como en la metástasis hepática, por lo que los resultados nunca podrán tener ni significación estadística ni relevancia clínica. De hecho, resulta paradójico que en estos dos casos la

supervivencia global y libre de enfermedad haya sido tan prolongada, cuando cabría esperar todo lo contrario.

No se ha observado expresión inmunohistoquímica de N-cadherina en la zona de transición del margen tumoral en la neoplasia de colon, no obstante, sí que se ha observado dicha expresión en el margen tumoral de la metástasis hepática, siendo la supervivencia global (HR: 4,871, IC 95%:2,121-11,19; $p=0,00019$.) (Figura 25,44) (Tabla 9), y la supervivencia libre de enfermedad significativamente inferiores (HR: 3,278, IC 95%:1,427-7,528; $p=0,00514$) (Figura 38) (Tabla 10). Hecho que podría tener una relevancia clínica importante, y relacionarse con una población de células tumorales con un fenotipo mesenquimal y una mayor capacidad invasiva proliferativa.

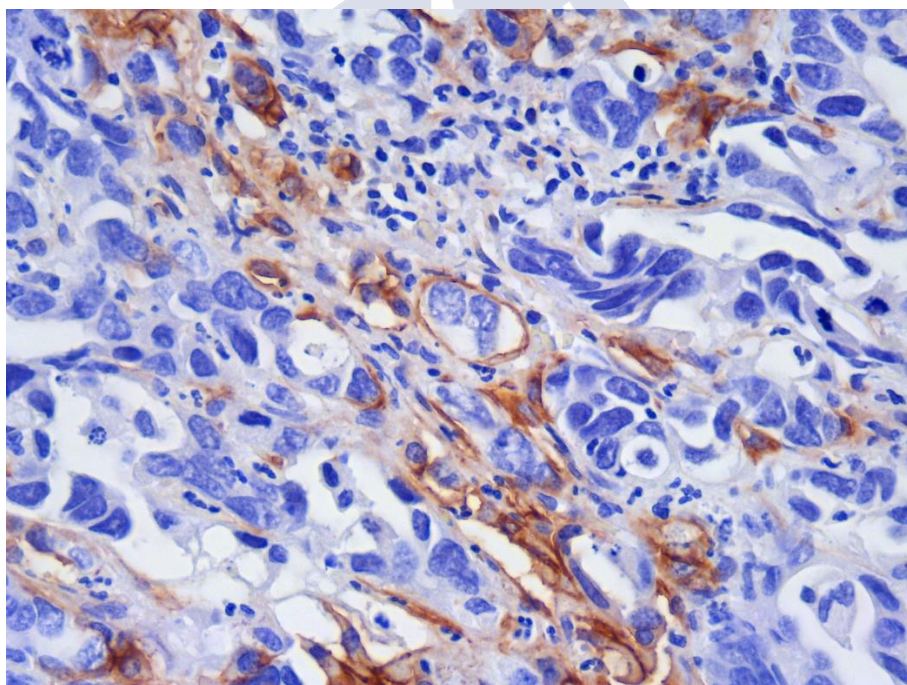


Figura 44: Expresión inmunohistoquímica positiva para N-cadherina en la zona de transición en el margen tumoral de la metástasis hepática.

4.11.2 Vimentina

La vimentina es responsable del mantenimiento de la forma celular, de la integridad del citoplasma, de la estabilización del citoesqueleto, de la señalización celular y, de la migración y adhesión celular. Interviene en la reorganización del citoesqueleto para el mantenimiento de la zona de transición epitelio mesénquima, su pérdida induce la reorganización del citoesqueleto, disminuyendo las adhesiones focales celulares, y provocando una disminución de la rigidez y de la fuerza contráctil[141, 160].

La modulación de la organización del citoesqueleto y de la adherencia intercelular se correlacionan con la carcinogénesis, con la zona de transición epitelio mesénquima y, por lo tanto, con la pérdida y ganancia de determinados marcadores mesenquimales. Además de las funciones intracelulares de la Vimentina, el reclutamiento de la vimentina a la superficie celular se relaciona con la adhesión, migración y señalización celular. Dicho reclutamiento se ha demostrado también en enfermedades autoinmunes, infecciones virales y, durante la progresión tumoral. La expresión de Vimentina en la superficie celular de macrófagos activados, plaquetas y linfocitos T, evidencia su participación en los mecanismos de apoptosis y su asociación con enfermedades inflamatorias[134, 141, 159].

La vimentina se relaciona con la invasión tumoral y con un peor pronóstico en un gran número de tumores como son el cáncer de mama, el cáncer de próstata, el melanoma y, el cáncer de pulmón. El papel exacto que juega la vimentina en la regulación de los procesos tumorales todavía no está completamente dilucidado[239].

En el colon y recto, la vimentina se expresa en las células estromales estando generalmente ausente su expresión en las células epiteliales colónicas. En muchos estudios se ha observado una alteración de su expresión en determinados tipos de tumores, implicando una mayor agresividad tumoral, una mayor progresión metastásica y en definitiva un peor pronóstico[159].

En la serie de pacientes estudiada no se ha observado expresión de vimentina en la zona de transición del margen tumoral, ni en la neoplasia de colon, ni en la metástasis hepática. Por lo que no se pueden

obtener datos que aporten significación estadística, ni que tengan importancia clínica; por ello, la vimentina no es un marcador inmunohistoquímico útil para la evaluación del pronóstico de los pacientes con cáncer de colon con enfermedad metastásica hepática.

4.11.3 CD44

En la actualidad existe un número muy limitado de estudios en los que se haya analizado la expresión de marcadores inmunohistoquímicos en los tumores colo-rectales primarios y en sus metástasis hepáticas y, su relación con la supervivencia global y libre de enfermedad una vez finalizado el tratamiento quirúrgico y quimioterápico. [133]

Existen grupos de investigación que tratan de descubrir la importancia de la expresión de CD44 como marcador pronóstico. Muchos tumores expresan CD44, y se ha observado una correlación positiva entre el aumento de la expresión de CD44 y la progresión o la diferenciación tumoral en estudios limitados referentes al linfoma no Hodgkin, al carcinoma hepatocelular, al cáncer de mama, al carcinoma de células renales, al cáncer de colon, a tumores de tejidos blandos, al cáncer de próstata y al cáncer gástrico. No obstante, la expresión de CD44 se reduce en otros tumores como el neuroblastoma, carcinomas de células escamosas y de células basales de piel[240-242].

De acuerdo a algunos autores, CD44 podría emplearse como marcador pronóstico inmunohistoquímico en el cáncer colo-rectal, y de hecho, en algunos casos se ha observado que una mayor expresión se asocia a un peor pronóstico independientemente del estadio TNM[133].

Existen publicaciones en las que niveles de expresión elevados de CD44 se correlacionan inversamente con el grado de diferenciación celular, es decir con poblaciones de células tumorales poco diferenciadas, con infraexpresión de E-cadherina y con un aumento de la expresión de vimentina. Por el contrario, se ha relacionado una infraexpresión de CD44 con una disminución de la capacidad invasora y migratoria de las células, y con una disminución de la expresión de vimentina, pero no de E-cadherina, en las células tumorales colónicas.

En varios artículos se ha asociado la expresión inmunohistoquímica de CD44 con el pronóstico de los pacientes con cáncer de colon estadio II-III tras la resección quirúrgica. No obstante, la interpretación de la expresión de CD44 en los pacientes con cáncer de colon empleando un análisis inmunohistoquímico es todavía controvertida[137, 243, 244].

Saito et al, han observado una relación inversa entre la expresión de CD44 y la diferenciación celular, es decir, una expresión elevada de CD44 en células tumorales pobremente diferenciadas con ausencia de polaridad celular y una reducción de los niveles de CD44 en células con una capacidad de migración disminuida, con una disminución de la expresión de E-cadherina y con un aumento de la expresión de Vimentina en las células tumorales en el cáncer de colon, lo que implicaría un aumento de la invasión y migración de las células tumorales; por lo que parece clara la relación entre la expresión de CD44 y la zona de transición epitelio mesénquima en el frente de invasión en el cáncer colorrectal. Han observado además que una alta expresión de CD44 es un factor pronóstico independiente en la supervivencia libre de enfermedad y global en los pacientes con cáncer colo-rectal estadio II-III sometidos a una resección quirúrgica R0[245].

Existen autores que han observado una disminución de la expresión mesenquimal de CD44 en estadios avanzados del cáncer de colon con un peor pronóstico, sin embargo, otros autores no han podido relacionar significativamente la expresión de CD44 con la progresión del cáncer colo-rectal, existiendo incluso algunos que han descrito un pronóstico más favorable.

No existe unanimidad en los resultados obtenidos por los diferentes autores, de hecho, en alguna publicaciones en las que la ausencia de expresión de CD44 en la matriz estromal se ha relacionado con un peor pronóstico[246].

En la serie de pacientes estudiada, las curvas de supervivencia global y libre de enfermedad en relación a la expresión inmunohistoquímica de CD44 en el margen tumoral de la neoplasia de colon y de la metástasis hepática han sido las siguientes: en el análisis de las curvas de Kaplan Meier, se puede observar una correlación positiva entre la expresión inmunohistoquímica de CD44 en la

metástasis hepática con la supervivencia tanto global (HR: 0,4668, IC 95%:0,246-0,8857; $p=0,0197$) (Figura 22,45) (Tabla 9) como en la supervivencia libre de enfermedad (HR: 0,3757, IC 95%: 0,1779-0,7934; $p=0,0103$) (Figura 39) (Tabla 10), lo cual podría tener una relevancia clínica importante; de hecho, cuando hay expresión de CD44 en el margen tumoral de la neoplasia colo-rectal, y de la metástasis hepática se duplica la supervivencia (HR= 0,46 y HR=0,37), y se alcanza una importante significación estadística. Y ello, se ha confirmado en el análisis multivariante mediante regresión de Cox para la expresión de CD44 en la metástasis hepática ($p= 0,047$) en relación a la supervivencia global (Figura 41).

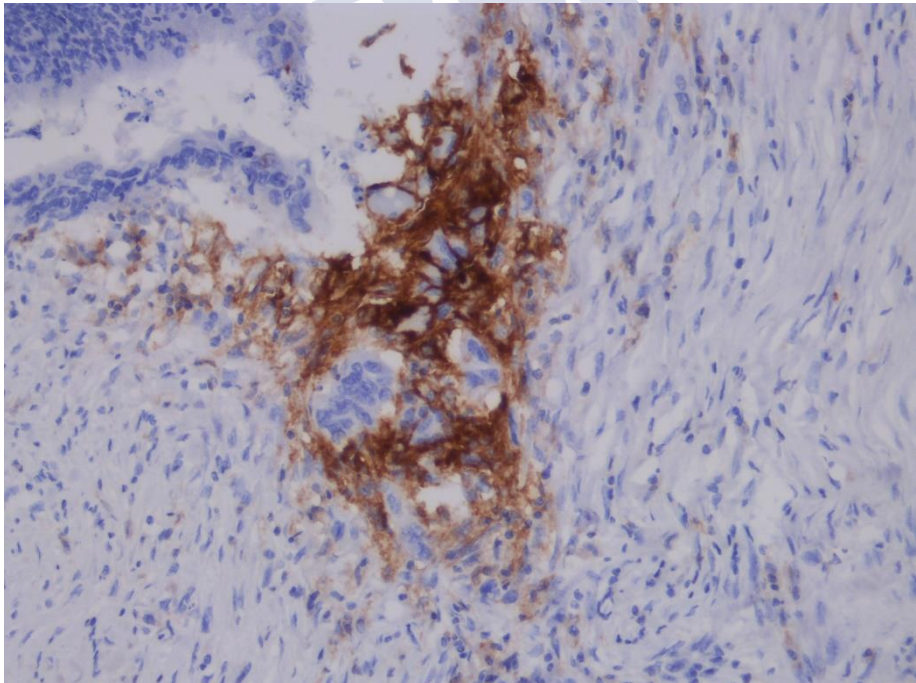


Figura 45: Expresión inmunohistoquímica positiva para CD44 en el margen tumoral de la metástasis hepática.

4.11.4 CDX2

La pérdida de CDX2 se ha relacionado en algunos estudios con una evolución desfavorable del cáncer colo-rectal esporádico. CDX2 es un regulador de la oncogénesis y del desarrollo intestinal, su expresión es altamente específica del epitelio intestinal. De hecho, se ha observado que en los cánceres de colon sin expresión de CDX2 existe con frecuencia un incremento de la agresividad tumoral, es decir, un estadio tumoral avanzado, una pobre diferenciación tumoral, invasión vascular, BRAF mutado, etc,... de la misma forma, su expresión disminuye progresivamente a medida que disminuye el grado de diferenciación en los carcinomas gástricos[145].

Jung-A Yun et al, han observado que en los pacientes con cáncer de colon que no habían recibido quimioterapia adyuvante, la ausencia de expresión de CDX2 se asocia a una supervivencia libre de enfermedad inferior a la de los pacientes con expresión de dicha molécula en las células tumorales, independientemente del resto de factores de riesgo conocidos. En estudios realizados con anterioridad se había observado que los tumores de colon en los que no existía expresión de CDX2 existían variables pronósticas más desfavorables: estadio tumoral avanzado, pobre diferenciación, invasión vascular, mutación BRAF, etc,...[146, 247]

Bauer et al, observaron que los pacientes con tumores de colon derecho con una elevada expresión de CDX2 tienen una supervivencia libre de enfermedad superior a aquellos con una expresión baja (0,88 vs 0,39; IC 95%). Por lo tanto, parece que existe una fuerte asociación entre una baja expresión de CDX2 y el desarrollo de recidiva tumoral.

A diferencia de las publicaciones existentes en el momento actual, la expresión inmunohistoquímica de CDX2 en nuestro estudio se ha correlacionado inversamente con la supervivencia de una forma muy significativa (Figuras 23, 24, 34, 35, 46, 47). De hecho, su ausencia de expresión tanto a nivel del colon como en la metástasis hepática, ha supuesto un aumento muy importante de la supervivencia tanto global como libre de enfermedad, y este hecho, puede ser muy relevante desde el punto de vista clínico (Tabla 9,10):

-Supervivencia global: Expresión de CDX2 en el margen tumoral de la neoplasia colo-rectal. HR: 6,017, IC 95%:1,81-20; $p=0,0034$.

-Supervivencia libre de enfermedad: Expresión de CDX2 en margen tumoral de neoplasia colo-rectal. HR: 12,19, IC 95%:1,653-89,89; $p=0,0142$.

-Supervivencia global: Expresión de CDX2 en margen tumoral de metástasis hepática. HR: 3,102, IC 95%: 1,204-7,989; $p=0,019$.

-Supervivencia libre de enfermedad: Expresión de CDX2 en el margen tumoral de la metástasis hepática. HR: 3,594, IC 95%:1,09-11,85; $p=0,0355$.

Se ha confirmado en el estudio multivariante de regresión de Cox la relevancia de la expresión de CDX2 en el margen tumoral de la neoplasia colo-rectal como factor de riesgo significativo para la supervivencia global ($p=0,004$) y, para la supervivencia libre de enfermedad ($p=0,025$) (Figuras 41, 42) (Tabla 11).

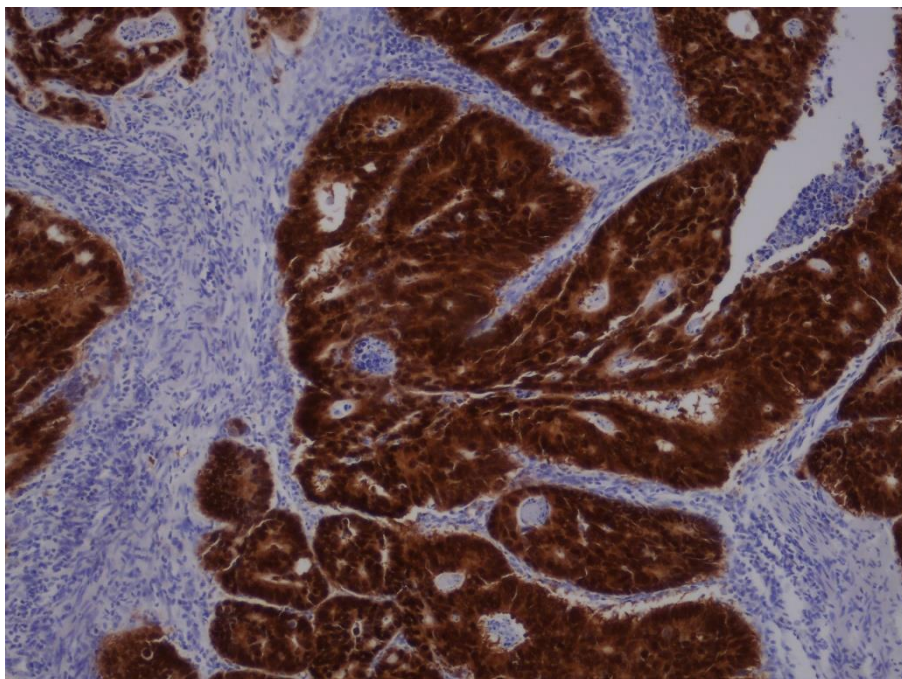


Figura 46: Expresión inmunohistoquímica de CDX2 en el margen tumoral de la neoplasia colo-rectal.

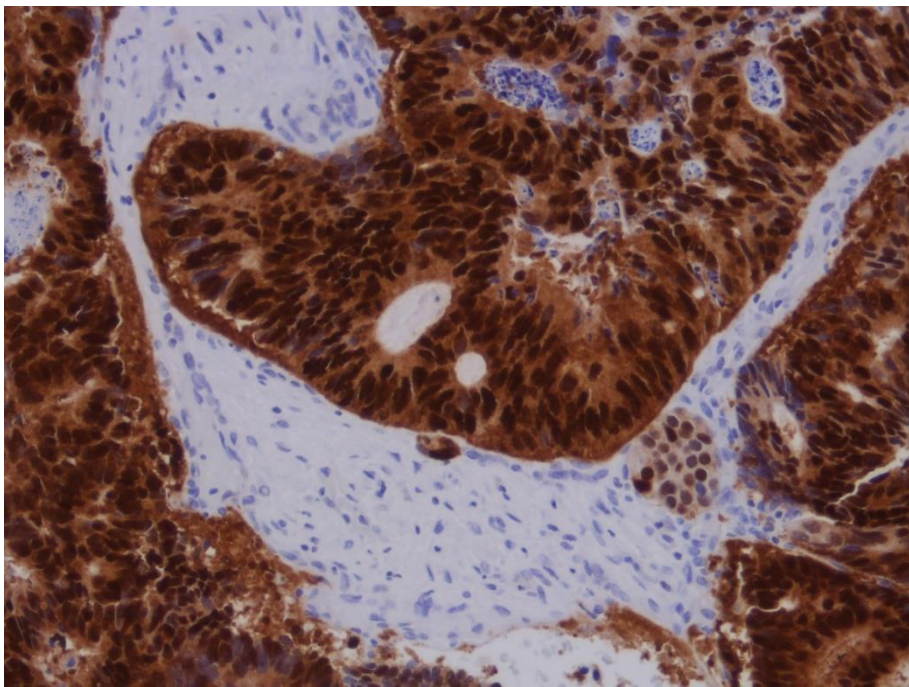


Figura 47: Expresión inmunohistoquímica de CDX2 en el margen tumoral de la metástasis hepática.

4.11.5 MUC-2

En los tumores colo-rectales, se han estudiado varios tipos de mucina en relación a la secuencia adenoma-adenocarcinoma. Se sabe que durante el proceso de carcinogénesis se puede perder la expresión de mucina o puede desarrollarse una expresión aberrante en localizaciones en las que no existía con anterioridad, lo que puede estar implicado en la progresión y diseminación de la enfermedad. Sin embargo, todavía no está clara la implicación de la expresión aberrante de mucina en la evolución oncológica de la enfermedad[248].

El trabajo realizado por Betge et al, se ha demostrado que la pérdida de expresión de MUC2 empeora la supervivencia en los pacientes con cáncer colo-rectal. En estudios realizados con anterioridad se había estudiado el impacto de la expresión de MUC1 en la progresión tumoral y en la supervivencia. De hecho, se ha relacionado la expresión de MUC1 con un estadio TNM mayor y con una reducción de la supervivencia libre de enfermedad y de la supervivencia global. Duncan et al, no obstante, no ha observado una relación con el estadio TNM, pero si una disminución significativa de la supervivencia en pacientes con tumores MUC1[249].

La expresión de MUC2 está muy aumentada en los adenocarcinomas mucinosos y puede desaparecer durante el desarrollo de adenocarcinomas mucinosos. El valor pronóstico de la expresión de MUC2 es controvertido en los diferentes estudios realizados al respecto. Elzaheid et al, observaron que la presencia de MUC2 puede predecir de forma significativa la supervivencia libre de enfermedad en los pacientes con cáncer colo-rectal en todos los estadios[250]. En relación a ello, Lugli et al, publicaron una serie de 1420 casos en los se ha observado que la pérdida de MUC2 se relaciona con la presencia de metástasis ganglionares y con una disminución de la supervivencia en los pacientes con cáncer colo-rectal, tanto si tienen deficiencia de proteínas reparadoras como si no[251]. En la misma línea, Kang et al, estudiaron la expresión de MUC2 en pacientes con cáncer colo-rectal estadios II y III, observando una relación entre su ausencia de expresión y la disminución significativa de la supervivencia global[252]. No

obstante, en otros estudios publicados por diferentes grupos, no se ha observado dicha relación. Walsh MD et al, han demostrado la importante relación que existe entre la expresión de MUC2, MUC5AC, y MUC6 y la presencia o no de proteínas reparadoras; de hecho han descubierto que en los pacientes sin déficit de proteínas reparadoras con pérdida de expresión de MUC2 y aumento de expresión de MUC5AC y MUC6 existe una supervivencia menor[253]. Betge et al, han demostrado que la ausencia de expresión de MUC2 es un factor pronóstico negativo tanto en los pacientes sin ausencia de proteínas reparadoras como en los pacientes MLH1 negativo con cáncer colo-rectal, pero no en los pacientes con cáncer colo-rectal hereditario no asociado a poliposis[249].

En nuestro estudio se han estudiado las gráficas de supervivencia en relación a la expresión inmunohistoquímica de MUC2 en la zona de transición del margen tumoral en la neoplasia colo-rectal y en la metástasis hepática con los siguientes resultados: en relación a la supervivencia global no se han observado diferencias entre los pacientes con expresión de MUC2 en el margen tumoral de la neoplasia colo-rectal (HR: 0,9715, IC 95%: 0,5149-1,833; p=0,929) ni en la metástasis hepática (HR: 1,487, IC 95%: 0,7137-3,098; p=0,289) (Tabla 9) (Figura 48), sin embargo, al analizar la supervivencia libre de enfermedad en los pacientes con expresión de MUC2 en el margen tumoral de la metástasis hepática, se observa un aumento significativo de la misma (HR: 0,4459, IC 95%: 0,2242-0,8867; p=0,0213) (Tabla 10) (Figura 33, 40, 49). Lo cual puede tener relevancia clínica, porque podría permitir identificar a aquellos pacientes que se beneficiarían de un seguimiento post-tratamiento más estrecho, para la detección de una recidiva precoz y poder tratarla. No obstante, en el análisis multivariante no se ha podido confirmar este hecho (Figura 42).

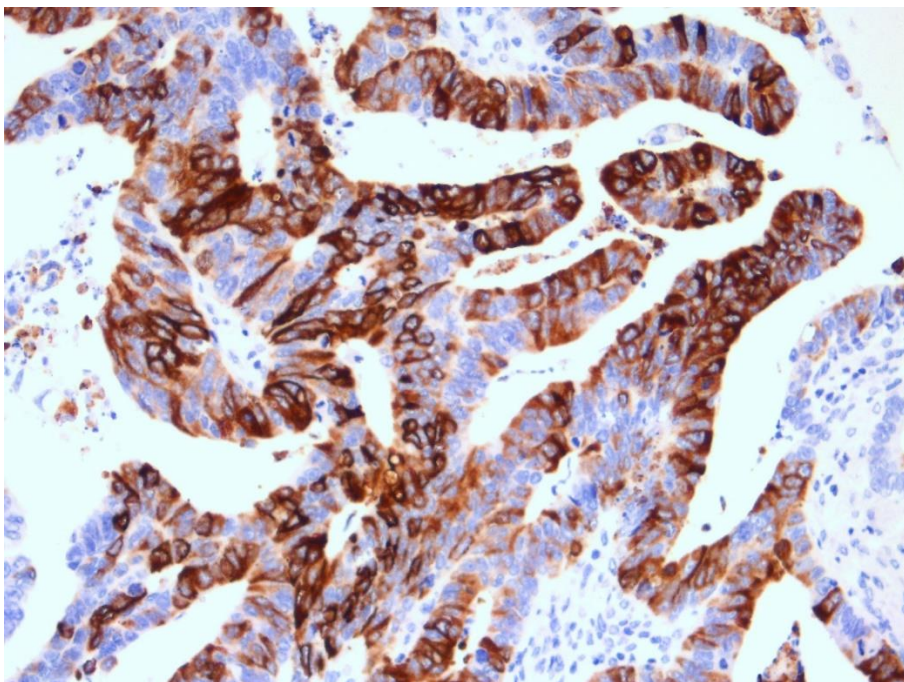


Figura 48: Expresión inmunohistoquímica de MUC2 en el margen tumoral de la neoplasia de colo-rectal.

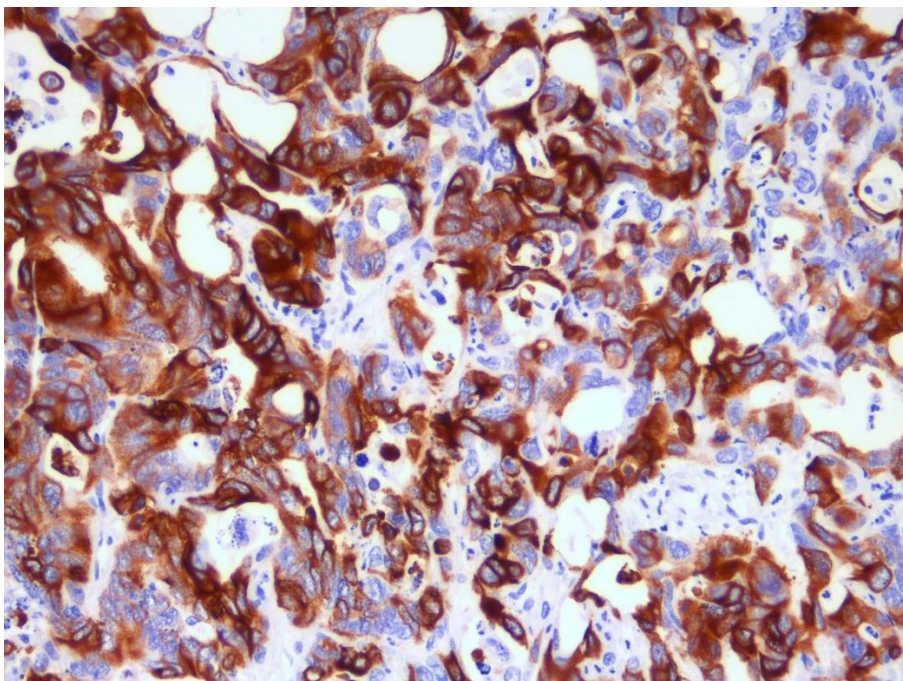


Figura 49: Expresión inmunohistoquímica de MUC2 en el margen tumoral de la metástasis hepática.

5. CONCLUSIONES

1. La recidiva hepática en cualquier momento de la evolución de los pacientes, es un factor pronóstico desfavorable, e implica una disminución de la supervivencia global.
2. La ausencia de expresión de CDX2 en la zona de transición epitelio-mesénquima del margen tumoral de la neoplasia colorectal, es un factor pronóstico favorable que implica un aumento de la supervivencia global y libre de enfermedad de los pacientes.
3. La expresión de CD44 en la zona de transición epitelio-mesénquima del margen tumoral de la metástasis hepática es un factor pronóstico favorable en relación a la supervivencia global de los pacientes.
4. La identificación de proteínas con una expresión inmunohistoquímica relevante en la supervivencia (CDX2 y CD44), permite la identificación de pacientes que se pueden beneficiar de un seguimiento oncológico más estrecho y exhaustivo, para la detección precoz de una recidiva de la enfermedad potencialmente tratable y curable. Además, podría servir para indicar la administración de quimioterapia adyuvante tras la cirugía de una neoplasia de colon en un estadio precoz sin otros factores de mal pronóstico.
5. Concluimos que con la modificación de la expresión de CDX2 y de CD44, actuamos directamente sobre la zona de transición epitelio mesénquima, lo que puede evitar la progresión y la diseminación metastásica tumoral en su origen.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Boakye D, Rillmann B, Walter V et al. Impact of comorbidity and frailty on prognosis in colorectal cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev* 2018; 64: 30-39.
2. Pullmer R, Linden W, Rnic K, Vodermaier A. Measuring symptoms in gastrointestinal cancer: a systematic review of assessment instruments. *Support Care Cancer* 2014; 22: 2941-2955.
3. Maida M, Macaluso FS, Ianiro G et al. Screening of colorectal cancer: present and future. *Expert Rev Anticancer Ther* 2017; 17: 1131-1146.
4. Provenzale D, Jasperson K, Ahnen DJ et al. Colorectal Cancer Screening, Version 1.2015. *J Natl Compr Canc Netw* 2015; 13: 959-968; quiz 968.
5. Speights VO, Johnson MW, Stoltenberg PH et al. Colorectal cancer: current trends in initial clinical manifestations. *South Med J* 1991; 84: 575-578.
6. Messersmith WA. Systemic Management of Colorectal Cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2017; 15: 699-702.
7. Pickhardt PJ, Hassan C, Halligan S, Marmo R. Colorectal cancer: CT colonography and colonoscopy for detection--systematic review and meta-analysis. *Radiology* 2011; 259: 393-405.
8. Jeon J, Du M, Schoen RE et al. Determining Risk of Colorectal Cancer and Starting Age of Screening Based on Lifestyle, Environmental, and Genetic Factors. *Gastroenterology* 2018.
9. Moreno CC, Mittal PK, Sullivan PS et al. Colorectal Cancer Initial Diagnosis: Screening Colonoscopy, Diagnostic Colonoscopy, or Emergent Surgery, and Tumor Stage and Size at Initial Presentation. *Clin Colorectal Cancer* 2016; 15: 67-73.
10. Pickhardt PJ, Yee J, Johnson CD. CT colonography: over two decades from discovery to practice. *Abdom Radiol (NY)* 2018; 43: 517-522.
11. Steele SR, Chang GJ, Hendren S et al. Practice Guideline for the Surveillance of Patients After Curative Treatment of Colon and Rectal Cancer. *Dis Colon Rectum* 2015; 58: 713-725.

12. Liu Z, Zhang Y, Niu Y et al. A systematic review and meta-analysis of diagnostic and prognostic serum biomarkers of colorectal cancer. *PLoS One* 2014; 9: e103910.
13. Ronnett BM, Kurman RJ, Shmookler BM et al. The morphologic spectrum of ovarian metastases of appendiceal adenocarcinomas: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of tumors often misinterpreted as primary ovarian tumors or metastatic tumors from other gastrointestinal sites. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 1144-1155.
14. Friedman SL, Wright TL, Altman DF. Gastrointestinal Kaposi's sarcoma in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Endoscopic and autopsy findings. *Gastroenterology* 1985; 89: 102-108.
15. Busch E, Rodriguez-Bigas M, Mamounas E et al. Primary colorectal non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Surg Oncol* 1994; 1: 222-228.
16. Jin M, Roth R, Rock JB et al. The impact of tumor deposits on colonic adenocarcinoma AJCC TNM staging and outcome. *Am J Surg Pathol* 2015; 39: 109-115.
17. Abdel-Rahman O. Revisiting Dukes' paradigm; some node positive colon cancer patients have better prognosis than some node negative patients. *Clin Transl Oncol* 2017.
18. Jin M, Frankel WL. Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2018; 27: 401-412.
19. Sloothaak DA, Sahami S, van der Zaag-Loonen HJ et al. The prognostic value of micrometastases and isolated tumour cells in histologically negative lymph nodes of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40: 263-269.
20. Hundt W, Braunschweig R, Reiser M. Evaluation of spiral CT in staging of colon and rectum carcinoma. *Eur Radiol* 1999; 9: 78-84.
21. Elmas N, Killi RM, Sever A. Colorectal carcinoma: radiological diagnosis and staging. *Eur J Radiol* 2002; 42: 206-223.
22. Sibilleau E, Ridereau-Zins C, Vanel D et al. Accuracy of water-enema multidetector computed tomography (WE-MDCT) in colon cancer staging: a prospective study. *Abdom Imaging* 2014; 39: 941-948.

23. McAndrew MR, Saba AK. Efficacy of routine preoperative computed tomography scans in colon cancer. *Am Surg* 1999; 65: 205-208.
24. Elibol FD, Obuz F, Sokmen S et al. The role of multidetector CT in local staging and evaluation of retroperitoneal surgical margin involvement in colon cancer. *Diagn Interv Radiol* 2016; 22: 5-12.
25. Nerad E, Lahaye MJ, Maas M et al. Diagnostic Accuracy of CT for Local Staging of Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *AJR Am J Roentgenol* 2016; 207: 984-995.
26. Sahani DV, Bajwa MA, Andrabi Y et al. Current status of imaging and emerging techniques to evaluate liver metastases from colorectal carcinoma. *Ann Surg* 2014; 259: 861-872.
27. Nahas CS, Akhurst T, Yeung H et al. Positron emission tomography detection of distant metastatic or synchronous disease in patients with locally advanced rectal cancer receiving preoperative chemoradiation. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 704-711.
28. Ozis SE, Soydal C, Akyol C et al. The role of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in the primary staging of rectal cancer. *World J Surg Oncol* 2014; 12: 26.
29. Enkhbaatar NE, Inoue S, Yamamuro H et al. MR Imaging with Apparent Diffusion Coefficient Histogram Analysis: Evaluation of Locally Advanced Rectal Cancer after Chemotherapy and Radiation Therapy. *Radiology* 2018; 171804.
30. Vogel JD, Eskicioglu C, Weiser MR et al. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Colon Cancer. *Dis Colon Rectum* 2017; 60: 999-1017.
31. Kuhry E, Schwenk WF, Gaupset R et al. Long-term results of laparoscopic colorectal cancer resection. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; Cd003432.
32. Nelson H, Petrelli N, Carlin A et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 583-596.
33. Hashiguchi Y, Hase K, Ueno H et al. Optimal margins and lymphadenectomy in colonic cancer surgery. *Br J Surg* 2011; 98: 1171-1178.

34. Otchy D, Hyman NH, Simmang C et al. Practice parameters for colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 1269-1284.
35. Wille-Jorgensen P. Evidence-based guidelines? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1828; author reply 1828-1829.
36. Lieberman DA, Rex DK, Winawer SJ et al. Guidelines for colonoscopy surveillance after screening and polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2012; 143: 844-857.
37. Rex DK. Colonoscopy: a review of its yield for cancers and adenomas by indication. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 353-365.
38. Krishnamurty DM, Hawkins AT, Wells KO et al. Neoadjuvant Radiation Therapy in Locally Advanced Colon Cancer: a Cohort Analysis. *J Gastrointest Surg* 2018.
39. Taylor WE, Donohue JH, Gunderson LL et al. The Mayo Clinic experience with multimodality treatment of locally advanced or recurrent colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 177-185.
40. Andre T, Boni C, Navarro M et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3109-3116.
41. Sargent D, Sobrero A, Grothey A et al. Evidence for cure by adjuvant therapy in colon cancer: observations based on individual patient data from 20,898 patients on 18 randomized trials. *J Clin Oncol* 2009; 27: 872-877.
42. Twelves C, Wong A, Nowacki MP et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2005; 352: 2696-2704.
43. Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2015; 20: 207-239.
44. Glimelius B, Pahlman L, Cervantes A. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 5: v82-86.
45. Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017; 28: iv22-iv40.

46. Garcia-Aguilar J, Renfro LA, Chow OS et al. Organ preservation for clinical T2N0 distal rectal cancer using neoadjuvant chemoradiotherapy and local excision (ACOSOG Z6041): results of an open-label, single-arm, multi-institutional, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2015; 16: 1537-1546.
47. Smart CJ, Korsgen S, Hill J et al. Multicentre study of short-course radiotherapy and transanal endoscopic microsurgery for early rectal cancer. *Br J Surg* 2016; 103: 1069-1075.
48. Sideris M, Donaldson AN, Hanrahan J et al. Radiotherapy May Offer a Recurrence and Survival Benefit in Rectal Cancers Treated Surgically with Transanal Endoscopic Microsurgery: A Systematic Review and Meta-analysis. *Anticancer Res* 2018; 38: 1879-1895.
49. Macchia G, Gambacorta MA, Masciocchi C et al. Time to surgery and pathologic complete response after neoadjuvant chemoradiation in rectal cancer: A population study on 2094 patients. *Clin Transl Radiat Oncol* 2017; 4: 8-14.
50. McCarthy K, Pearson K, Fulton R, Hewitt J. Pre-operative chemoradiation for non-metastatic locally advanced rectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: Cd008368.
51. Simson DK, Mitra S, Ahlawat P et al. Prospective study of neoadjuvant chemoradiotherapy using intensity-modulated radiotherapy and 5 fluorouracil for locally advanced rectal cancer - toxicities and response assessment. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 519-526.
52. Chen K, Xie G, Zhang Q et al. Comparison of short-course with long-course preoperative neoadjuvant therapy for rectal cancer: A meta-analysis. *J Cancer Res Ther* 2018; 14: S224-s231.
53. Fish R, Sanders C, Ryan N et al. Systematic review of outcome measures following chemo-radiotherapy for the treatment of anal cancer (CORMAC). *Colorectal Dis* 2018.
54. Haddock MG. Intraoperative radiation therapy for colon and rectal cancers: a clinical review. *Radiat Oncol* 2017; 12: 11.
55. Roberts KJ, White A, Cockbain A et al. Performance of prognostic scores in predicting long-term outcome following resection of colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2014; 101: 856-866.

56. Vigano L, Russolillo N, Ferrero A et al. Evolution of long-term outcome of liver resection for colorectal metastases: analysis of actual 5-year survival rates over two decades. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2035-2044.
57. Berri RN, Abdalla EK. Curable metastatic colorectal cancer: recommended paradigms. *Curr Oncol Rep* 2009; 11: 200-208.
58. Little K. Is a surgical CURE in the future for colorectal cancer liver metastasis? *Int J Surg Oncol (N Y)* 2017; 2: e34.
59. Adam R, Wicherts DA, de Haas RJ et al. Patients with initially unresectable colorectal liver metastases: is there a possibility of cure? *J Clin Oncol* 2009; 27: 1829-1835.
60. Nordlinger B, Guiguet M, Vaillant JC et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver. A prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. Association Francaise de Chirurgie. *Cancer* 1996; 77: 1254-1262.
61. Konopke R, Kersting S, Distler M et al. Prognostic factors and evaluation of a clinical score for predicting survival after resection of colorectal liver metastases. *Liver Int* 2009; 29: 89-102.
62. Spelt L, Andersson B, Nilsson J, Andersson R. Prognostic models for outcome following liver resection for colorectal cancer metastases: A systematic review. *Eur J Surg Oncol* 2012; 38: 16-24.
63. Jaeck D, Nakano H, Bachellier P et al. Significance of hepatic pedicle lymph node involvement in patients with colorectal liver metastases: a prospective study. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 430-438.
64. Pulitano C, Bodingbauer M, Aldrighetti L et al. Colorectal liver metastasis in the setting of lymph node metastasis: defining the benefit of surgical resection. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 435-442.
65. Truant S, Sequier C, Leteurtre E et al. Tumour biology of colorectal liver metastasis is a more important factor in survival than surgical margin clearance in the era of modern chemotherapy regimens. *HPB (Oxford)* 2015; 17: 176-184.
66. Sasaki K, Margonis GA, Maitani K et al. The Prognostic Impact of Determining Resection Margin Status for Multiple Colorectal Metastases According to the Margin of the Largest Lesion. *Ann Surg Oncol* 2017; 24: 2438-2446.

67. Hallet J, Sa Cunha A, Adam R et al. Factors influencing recurrence following initial hepatectomy for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2016; 103: 1366-1376.
68. Rajakannu M, Magdeleinat P, Vibert E et al. Is Cure Possible After Sequential Resection of Hepatic and Pulmonary Metastases From Colorectal Cancer? *Clin Colorectal Cancer* 2018; 17: 41-49.
69. Leung U, Gonen M, Allen PJ et al. Colorectal Cancer Liver Metastases and Concurrent Extrahepatic Disease Treated With Resection. *Ann Surg* 2017; 265: 158-165.
70. Shim JR, Lee SD, Han SS et al. Prognostic significance of (18)F-FDG PET/CT in patients with colorectal cancer liver metastases after hepatectomy. *Eur J Surg Oncol* 2018.
71. Kasai M, Cipriani F, Gayet B et al. Laparoscopic versus open major hepatectomy: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Surgery* 2018.
72. Adam R, Laurent A, Azoulay D et al. Two-stage hepatectomy: A planned strategy to treat irresectable liver tumors. *Ann Surg* 2000; 232: 777-785.
73. Pawlik TM, Schulick RD, Choti MA. Expanding criteria for resectability of colorectal liver metastases. *Oncologist* 2008; 13: 51-64.
74. Tsai S, Marques HP, de Jong MC et al. Two-stage strategy for patients with extensive bilateral colorectal liver metastases. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 262-269.
75. Lykoudis PM, O'Reilly D, Nastos K, Fusai G. Systematic review of surgical management of synchronous colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2014; 101: 605-612.
76. Martin RC, 2nd, Augenstein V, Reuter NP et al. Simultaneous versus staged resection for synchronous colorectal cancer liver metastases. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 842-850; discussion 850-842.
77. Kelly ME, Spolverato G, Le GN et al. Synchronous colorectal liver metastasis: a network meta-analysis review comparing classical, combined, and liver-first surgical strategies. *J Surg Oncol* 2015; 111: 341-351.
78. Vigano L, Torzilli G, Cimino M et al. Drop-out between the two liver resections of two-stage hepatectomy. Patient selection or loss of chance? *Eur J Surg Oncol* 2016; 42: 1385-1393.

79. Sadot E, Groot Koerkamp B, Leal JN et al. Resection margin and survival in 2368 patients undergoing hepatic resection for metastatic colorectal cancer: surgical technique or biologic surrogate? *Ann Surg* 2015; 262: 476-485; discussion 483-475.
80. Butte JM, Gonen M, Allen PJ et al. Recurrence After Partial Hepatectomy for Metastatic Colorectal Cancer: Potentially Curative Role of Salvage Repeat Resection. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 2761-2771.
81. Zhao J, Sawo P, Rensen SS et al. Impact of chemotherapy-associated liver injury on tumour regression grade and survival in patients with colorectal liver metastases. *HPB (Oxford)* 2018; 20: 147-154.
82. Gaujoux S, Goere D, Dumont F et al. Complete radiological response of colorectal liver metastases after chemotherapy: what can we expect? *Dig Surg* 2011; 28: 114-120.
83. Berardi G, De Man M, Laurent S et al. Radiologic and pathologic response to neoadjuvant chemotherapy predicts survival in patients undergoing the liver-first approach for synchronous colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 2018.
84. Simoneau E, Hassanain M, Shaheen M et al. Portal vein embolization and its effect on tumour progression for colorectal cancer liver metastases. *Br J Surg* 2015; 102: 1240-1249.
85. Hof J, Joosten HJ, Havenga K, de Jong KP. Radiofrequency ablation is beneficial in simultaneous treatment of synchronous liver metastases and primary colorectal cancer. *PLoS One* 2018; 13: e0193385.
86. Guo YL, Tong ZH, Xu X et al. [Colorectal resection combined with simultaneous radiofrequency ablation in the treatment of synchronous colorectal liver metastases: a retrospective analysis]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2017; 97: 925-928.
87. Moris D, Ronnekleiv-Kelly S, Kostakis ID et al. Operative Results and Oncologic Outcomes of Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy (ALPPS) Versus Two-Stage Hepatectomy (TSH) in Patients with Unresectable Colorectal Liver Metastases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World J Surg* 2018; 42: 806-815.

88. Regimbeau JM, Cosse C, Kaiser G et al. Feasibility, safety and efficacy of two-stage hepatectomy for bilobar liver metastases of colorectal cancer: a LiverMetSurvey analysis. *HPB (Oxford)* 2017; 19: 396-405.
89. Wicherts DA, de Haas RJ, Salloum C et al. Repeat hepatectomy for recurrent colorectal metastases. *Br J Surg* 2013; 100: 808-818.
90. Sasaki K, Andreatos N, Margonis GA et al. The prognostic implications of primary colorectal tumor location on recurrence and overall survival in patients undergoing resection for colorectal liver metastasis. *J Surg Oncol* 2016; 114: 803-809.
91. Lorenz M, Muller HH, Schramm H et al. [Interim analysis of a prospective, randomized multi-center study by the "Liver Metastases" Study Group: adjuvant intra-arterial chemotherapy after curative liver resection of colorectal metastases]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1998; 115: 523-528.
92. Kemeny NE, Ron IG. Hepatic arterial chemotherapy in metastatic colorectal patients. *Semin Oncol* 1999; 26: 524-535.
93. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 979-994.
94. Secco GB, Fardelli R, Campora E et al. Primary mucinous adenocarcinomas and signet-ring cell carcinomas of colon and rectum. *Oncology* 1994; 51: 30-34.
95. Nitsche U, Zimmermann A, Spath C et al. Mucinous and signet-ring cell colorectal cancers differ from classical adenocarcinomas in tumor biology and prognosis. *Ann Surg* 2013; 258: 775-782; discussion 782-773.
96. Frizelle FA, Hobday KS, Batts KP, Nelson H. Adenosquamous and squamous carcinoma of the colon and upper rectum: a clinical and histopathologic study. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 341-346.
97. Knox RD, Luey N, Sioson L et al. Medullary colorectal carcinoma revisited: a clinical and pathological study of 102 cases. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 2988-2996.
98. Moll R, Zimbelmann R, Goldschmidt MD et al. The human gene encoding cytokeratin 20 and its expression during fetal development and in gastrointestinal carcinomas. *Differentiation* 1993; 53: 75-93.

99. Sloothaak DAM, van der Linden RLA, van de Velde CJH et al. Prognostic implications of occult nodal tumour cells in stage I and II colon cancer: The correlation between micrometastasis and disease recurrence. *Eur J Surg Oncol* 2017; 43: 1456-1462.
100. Mescoli C, Albertoni L, Pucciarelli S et al. Isolated tumor cells in regional lymph nodes as relapse predictors in stage I and II colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 965-971.
101. Markowitz SD. Cancer bypasses the lymph nodes. *Science* 2017; 357: 35-36.
102. Hogan J, Chang KH, Duff G et al. Lymphovascular invasion: a comprehensive appraisal in colon and rectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 2015; 58: 547-555.
103. Park YJ, Park KJ, Park JG et al. Prognostic factors in 2230 Korean colorectal cancer patients: analysis of consecutively operated cases. *World J Surg* 1999; 23: 721-726.
104. Ishida H, Miwa H, Tatsuta M et al. Ki-67 and CEA expression as prognostic markers in Dukes' C colorectal cancer. *Cancer Lett* 2004; 207: 109-115.
105. Gabriel E, Attwood K, Al-Sukhni E et al. Age-related rates of colorectal cancer and the factors associated with overall survival. *J Gastrointest Oncol* 2018; 9: 96-110.
106. Locker GY, Hamilton S, Harris J et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5313-5327.
107. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ et al. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2017; 35: 1453-1486.
108. Bernstein TE, Endreseth BH, Romundstad P, Wibe A. Circumferential resection margin as a prognostic factor in rectal cancer. *Br J Surg* 2009; 96: 1348-1357.
109. Gosens MJ, Klaassen RA, Tan-Go I et al. Circumferential margin involvement is the crucial prognostic factor after multimodality treatment in patients with locally advanced rectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 6617-6623.

110. Garant A, Florianova L, Gologan A et al. Do clinical criteria reflect pathologic complete response in rectal cancer following neoadjuvant therapy? *Int J Colorectal Dis* 2018.
111. Landau MS, Kuan SF, Chiosea S, Pai RK. BRAF-mutated microsatellite stable colorectal carcinoma: an aggressive adenocarcinoma with reduced CDX2 and increased cytokeratin 7 immunohistochemical expression. *Hum Pathol* 2014; 45: 1704-1712.
112. Kim JH, Kang GH. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4230-4243.
113. Neumann JH, Jung A, Kirchner T. [Molecular pathology of colorectal cancer]. *Pathologe* 2015; 36: 137-144.
114. Popat S, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2005; 41: 2060-2070.
115. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer--ready for diagnostic practice? *Hum Pathol* 2016; 47: 4-19.
116. Konishi T, Shimada Y, Lee LH et al. Poorly Differentiated Clusters Predict Colon Cancer Recurrence: An In-Depth Comparative Analysis of Invasive-Front Prognostic Markers. *Am J Surg Pathol* 2018.
117. Draht MXG, Goudkade D, Koch A et al. Prognostic DNA methylation markers for sporadic colorectal cancer: a systematic review. *Clin Epigenetics* 2018; 10: 35.
118. Lee SJ, Lee J, Park SH et al. c-MET Overexpression in Colorectal Cancer: A Poor Prognostic Factor for Survival. *Clin Colorectal Cancer* 2018.
119. Loughrey MB, Bankhead P, Coleman HG et al. Validation of the systematic scoring of immunohistochemically-stained tumour tissue microarrays using QuPath digital image analysis. *Histopathology* 2018.
120. Jiang H, Du J, Gu J et al. A 65gene signature for prognostic prediction in colon adenocarcinoma. *Int J Mol Med* 2018; 41: 2021-2027.
121. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer* 2001; 85: 692-696.

122. Ntavatzikos A, Spathis A, Patapis P et al. Integrating TYMS, KRAS and BRAF testing in patients with metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 5913-5924.
123. San Martin R, Barron DA, Tuxhorn JA et al. Recruitment of CD34(+) fibroblasts in tumor-associated reactive stroma: the reactive microvasculature hypothesis. *Am J Pathol* 2014; 184: 1860-1870.
124. Canna K, McArdle PA, McMillan DC et al. The relationship between tumour T-lymphocyte infiltration, the systemic inflammatory response and survival in patients undergoing curative resection for colorectal cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 651-654.
125. Lee WS, Park S, Lee WY et al. Clinical impact of tumor-infiltrating lymphocytes for survival in stage II colon cancer. *Cancer* 2010; 116: 5188-5199.
126. Bates RC, Mercurio AM. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) and colorectal cancer progression. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 365-370.
127. Wu F, Zhu J, Mao Y et al. Associations between the Epithelial-Mesenchymal Transition Phenotypes of Circulating Tumor Cells and the Clinicopathological Features of Patients with Colorectal Cancer. 2017; 2017: 9474532.
128. Bronsert P, Enderle-Ammour K, Bader M et al. Cancer cell invasion and EMT marker expression: a three-dimensional study of the human cancer-host interface. *J Pathol* 2014; 234: 410-422.
129. Zeindl-Eberhart E, Brandl L, Liebmann S et al. Epithelial-mesenchymal transition induces endoplasmic-reticulum-stress response in human colorectal tumor cells. *PLoS One* 2014; 9: e87386.
130. Enderle-Ammour K, Bader M, Ahrens TD et al. Form follows function: Morphological and immunohistological insights into epithelial-mesenchymal transition characteristics of tumor buds. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317705501.
131. Oh BY, Kim SY, Lee YS et al. Twist1-induced epithelial-mesenchymal transition according to microsatellite instability status in colon cancer cells. *Oncotarget* 2016; 7: 57066-57076.
132. Jagle S, Busch H. SNAIL1-mediated downregulation of FOXA proteins facilitates the inactivation of transcriptional enhancer elements at key epithelial genes in colorectal cancer cells. 2017; 13: e1007109.

133. Spelt L, Sasor A, Ansari D et al. The Prognostic Role of Cancer Stem Cell Markers for Long-term Outcome After Resection of Colonic Liver Metastases. *Anticancer Res* 2018; 38: 313-320.
134. Rashed HE, Hussein S, Mosaad H et al. Prognostic significance of the genetic and the immunohistochemical expression of epithelial-mesenchymal-related markers in colon cancer. *Cancer Biomark* 2017; 20: 107-122.
135. Qin Y, Tang B, Hu CJ et al. An hTERT/ZEB1 complex directly regulates E-cadherin to promote epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in colorectal cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 351-361.
136. Mitselou A, Galani V, Skoufi U et al. Syndecan-1, Epithelial-Mesenchymal Transition Markers (E-cadherin/beta-catenin) and Neoangiogenesis-related Proteins (PCAM-1 and Endoglin) in Colorectal Cancer. *Anticancer Res* 2016; 36: 2271-2280.
137. Fang C, Fan C, Wang C. Prognostic value of CD133(+) CD54(+) CD44(+) circulating tumor cells in colorectal cancer with liver metastasis. 2017; 6: 2850-2857.
138. Bhat AA, Sharma A, Pope J et al. Caudal homeobox protein Cdx-2 cooperates with Wnt pathway to regulate claudin-1 expression in colon cancer cells. *PLoS One* 2012; 7: e37174.
139. Gurzu S, Banias L, Kovacs Z, Jung I. Epithelial-mesenchymal transition of tumor budding in colorectal cancer: the mystery of CD44-positive stromal cells. *Hum Pathol* 2018; 71: 168-169.
140. Semba S, Itoh N, Ito M et al. Down-regulation of PIK3CG, a catalytic subunit of phosphatidylinositol 3-OH kinase, by CpG hypermethylation in human colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3824-3831.
141. Liu CY, Lin HH, Tang MJ, Wang YK. Vimentin contributes to epithelial-mesenchymal transition cancer cell mechanics by mediating cytoskeletal organization and focal adhesion maturation. *Oncotarget* 2015; 6: 15966-15983.
142. Dawson H, Lugli A. Molecular and pathogenetic aspects of tumor budding in colorectal cancer. *Front Med (Lausanne)* 2015; 2: 11.
143. Mehrvarz Sarshekeh A, Advani S, Overman MJ et al. Association of SMAD4 mutation with patient demographics, tumor

- characteristics, and clinical outcomes in colorectal cancer. 2017; 12: e0173345.
144. Hryniuk A, Grainger S, Savory JG, Lohnes D. Cdx1 and Cdx2 function as tumor suppressors. *J Biol Chem* 2014; 289: 33343-33354.
145. Zhang JF, Qu LS, Qian XF et al. Nuclear transcription factor CDX2 inhibits gastric cancer cell growth and reverses epithelial to mesenchymal transition in vitro and in vivo. *Mol Med Rep* 2015; 12: 5231-5238.
146. Brabletz T, Spaderna S, Kolb J et al. Down-regulation of the homeodomain factor Cdx2 in colorectal cancer by collagen type I: an active role for the tumor environment in malignant tumor progression. *Cancer Res* 2004; 64: 6973-6977.
147. Tsoumas D, Nikou S, Giannopoulou E et al. ILK Expression in Colorectal Cancer Is Associated with EMT, Cancer Stem Cell Markers and Chemoresistance. *Cancer Genomics Proteomics* 2018; 15: 127-141.
148. Li J, Zou K, Yu L et al. MicroRNA-140 Inhibits the Epithelial-Mesenchymal Transition and Metastasis in Colorectal Cancer. *Mol Ther Nucleic Acids* 2018; 10: 426-437.
149. Wellner U, Schubert J, Burk UC et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 1487-1495.
150. Tato-Costa J, Casimiro S, Pacheco T et al. Therapy-Induced Cellular Senescence Induces Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Increases Invasiveness in Rectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2016; 15: 170-178.e173.
151. Bhangu A, Wood G, Brown G et al. The role of epithelial mesenchymal transition and resistance to neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer. *Colorectal Dis* 2014; 16: O133-143.
152. Shintani Y, Fujiwara A, Kimura T et al. IL-6 Secreted from Cancer-Associated Fibroblasts Mediates Chemoresistance in NSCLC by Increasing Epithelial-Mesenchymal Transition Signaling. *J Thorac Oncol* 2016; 11: 1482-1492.
153. Lim SH, Chua W, Henderson C et al. Predictive and prognostic biomarkers for neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 96: 67-80.

154. Findlay VJ, Wang C, Nogueira LM et al. SNAI2 modulates colorectal cancer 5-fluorouracil sensitivity through miR145 repression. *Mol Cancer Ther* 2014; 13: 2713-2726.
155. Liao H, Bai Y, Qiu S et al. MiR-203 downregulation is responsible for chemoresistance in human glioblastoma by promoting epithelial-mesenchymal transition via SNAI2. *Oncotarget* 2015; 6: 8914-8928.
156. Sakowicz-Burkiewicz M, Przybyla T, Wesserling M et al. Suppression of TWIST1 enhances the sensitivity of colon cancer cells to 5-fluorouracil. *Int J Biochem Cell Biol* 2016; 78: 268-278.
157. Przybyla T, Wesserling M, Sakowicz-Burkiewicz M et al. The Level of TWIST1 expression determines the response of colon cancer cells to mitogen-activated protein kinases inhibitors. *Saudi J Gastroenterol* 2018; 24: 37-45.
158. Liu X, Ji Q. JianPi JieDu Recipe Inhibits Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Colorectal Cancer through TGF-beta/Smad Mediated Snail/E-Cadherin Expression. 2017; 2017: 2613198.
159. Niknami Z, Eslamifar A, Emamirazavi A et al. The association of vimentin and fibronectin gene expression with epithelial-mesenchymal transition and tumor malignancy in colorectal carcinoma. *Excli j* 2017; 16: 1009-1017.
160. Choi BJ, Park SA, Lee SY et al. Hypoxia induces epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells through ubiquitin-specific protease 47-mediated stabilization of Snail: A potential role of Sox9. *Sci Rep* 2017; 7: 15918.
161. Sakuma K, Sasaki E, Kimura K et al. HNRNPLL, a newly identified colorectal cancer metastasis suppressor, modulates alternative splicing of CD44 during epithelial-mesenchymal transition. *Gut* 2017.
162. Sakuma K, Aoki M, Kannagi R. Transcription factors c-Myc and CDX2 mediate E-selectin ligand expression in colon cancer cells undergoing EGF/bFGF-induced epithelial-mesenchymal transition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 7776-7781.
163. Wang H, Jin S, Lu H et al. Expression of survivin, MUC2 and MUC5 in colorectal cancer and their association with clinicopathological characteristics. *Oncol Lett* 2017; 14: 1011-1016.

164. Patel DS, Khandeparkar SGS, Joshi AR et al. Immunohistochemical Study of MUC1, MUC2 and MUC5AC Expression in Primary Breast Carcinoma. *J Clin Diagn Res* 2017; 11: Ec30-ec34.
165. Benson AB, 3rd, Venook AP, Cederquist L et al. Colon Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2017; 15: 370-398.
166. Engstrand J, Kartalis N, Stromberg C et al. The Impact of a Hepatobiliary Multidisciplinary Team Assessment in Patients with Colorectal Cancer Liver Metastases: A Population-Based Study. *Oncologist* 2017; 22: 1067-1074.
167. Donadon M, Cescon M, Cucchetti A et al. Parenchymal-Sparing Surgery for the Surgical Treatment of Multiple Colorectal Liver Metastases Is a Safer Approach than Major Hepatectomy Not Impairing Patients' Prognosis: A Bi-Institutional Propensity Score-Matched Analysis. *Dig Surg* 2017.
168. Schiergens TS, Lindenthaler A, Thomas MN et al. Time-dependent impact of age and comorbidities on long-term overall survival after liver resection. *Liver Int* 2016; 36: 1340-1350.
169. Majd P, Ahmad W, Galas N, Brunkwall JS. Patients Older Than 80 Years Can Reach Their Normal Life Expectancy After Abdominal Aortic Aneurysm Repair: A Comparison Between Endovascular Aneurysm Repair and Open Surgery. *J Endovasc Ther* 2018; 1526602818759757.
170. Corrigan LR, Bracken-Clarke DM, Horgan AM. The challenge of treating older patients with pancreaticobiliary malignancies. *Curr Probl Cancer* 2018.
171. Vermillion SA, Hsu FC, Dorrell RD et al. Modified frailty index predicts postoperative outcomes in older gastrointestinal cancer patients. 2017; 115: 997-1003.
172. Adam R, Frilling A, Elias D et al. Liver resection of colorectal metastases in elderly patients. *Br J Surg* 2010; 97: 366-376.
173. de Haas RJ, Wicherts DA, Salloum C et al. Long-term outcomes after hepatic resection for colorectal metastases in young patients. *Cancer* 2010; 116: 647-658.

174. Cho JY, Han HS, Wakabayashi G et al. Practical guidelines for performing laparoscopic liver resection based on the second international laparoscopic liver consensus conference. *Surg Oncol* 2018.
175. Tufo A, Dunne DFJ, Manu N et al. Hepatectomy for octogenarians with colorectal liver metastasis in the era of enhanced recovery. *Eur J Surg Oncol* 2018.
176. Saing S, Haywood P, Duncan JK, Ma N. Cost-effective imaging for resectability of liver lesions in colorectal cancer: an economic decision model. 2017.
177. Westwood M, Joore M, Grutters J et al. Contrast-enhanced ultrasound using SonoVue(R) (sulphur hexafluoride microbubbles) compared with contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced magnetic resonance imaging for the characterisation of focal liver lesions and detection of liver metastases: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess* 2013; 17: 1-243.
178. Creasy JM, Sadot E, Koerkamp BG et al. Actual 10-year survival after hepatic resection of colorectal liver metastases: what factors preclude cure? *Surgery* 2018.
179. Hughes KS, Simon R, Songhorabodi S et al. Resection of the liver for colorectal carcinoma metastases: a multi-institutional study of patterns of recurrence. *Surgery* 1986; 100: 278-284.
180. Ekberg H, Tranberg KG, Lundstedt C et al. Determinants of survival after intraarterial infusion of 5-fluorouracil for liver metastases from colorectal cancer: a multivariate analysis. *J Surg Oncol* 1986; 31: 246-254.
181. Allard MA, Adam R, Giuliani F et al. Long-term outcomes of patients with 10 or more colorectal liver metastases. *Br J Cancer* 2017; 117: 604-611.
182. Margonis GA, Sergeantanis TN, Ntanasis-Stathopoulos I et al. Impact of Surgical Margin Width on Recurrence and Overall Survival Following R0 Hepatic Resection of Colorectal Metastases: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Surg* 2017.
183. Memeo R, de Blasi V, Adam R et al. Margin Status is Still an Important Prognostic Factor in Hepatectomies for Colorectal Liver

Metastases: A Propensity Score Matching Analysis. *World J Surg* 2018; 42: 892-901.

184. de Jong MC, Beckers RCJ, van Woerden V et al. The liver-first approach for synchronous colorectal liver metastases: more than a decade of experience in a single centre. *HPB (Oxford)* 2018.

185. Margonis GA, Buettner S, Andreatos N et al. Prognostic Factors Change Over Time After Hepatectomy for Colorectal Liver Metastases: A Multi-institutional, International Analysis of 1099 Patients. *Ann Surg* 2018.

186. Makowiec F, Bronsert P, Klock A et al. Prognostic influence of hepatic margin after resection of colorectal liver metastasis: role of modern preoperative chemotherapy. *Int J Colorectal Dis* 2018; 33: 71-78.

187. Dhir M, Lyden ER, Smith LM, Are C. Influence of margins on disease free survival following hepatic resection for colorectal metastasis: a meta-analysis. *Indian J Surg Oncol* 2012; 3: 321-329.

188. Dhir M, Sasson AR. Surgical Management of Liver Metastases From Colorectal Cancer. *J Oncol Pract* 2016; 12: 33-39.

189. Ayez N, Lalmahomed ZS, Eggermont AM et al. Outcome of microscopic incomplete resection (R1) of colorectal liver metastases in the era of neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 1618-1627.

190. Lalmahomed ZS, Ayez N, van der Pool AE et al. Anatomical versus nonanatomical resection of colorectal liver metastases: is there a difference in surgical and oncological outcome? *World J Surg* 2011; 35: 656-661.

191. Mao R, Zhao JJ, Bi XY et al. Interaction of margin status and tumour burden determines survival after resection of colorectal liver metastases: A retrospective cohort study. *Int J Surg* 2017.

192. Torzilli G, Vigano L, Cimino M et al. Is Enhanced One-Stage Hepatectomy a Safe and Feasible Alternative to the Two-Stage Hepatectomy in the Setting of Multiple Bilobar Colorectal Liver Metastases? A Comparative Analysis between Two Pioneering Centers. *Dig Surg* 2018.

193. Fonseca GM, Herman P, Faraj SF et al. Pathological factors and prognosis of resected liver metastases of colorectal carcinoma:

implications and proposal for a pathological reporting protocol. *Histopathology* 2018; 72: 377-390.

194. Hosokawa I, Allard MA, Mirza DF et al. Outcomes of parenchyma-preserving hepatectomy and right hepatectomy for solitary small colorectal liver metastasis: A LiverMetSurvey study. *Surgery* 2017; 162: 223-232.

195. Le Souder EB, Azin A, Hirpara DH, Walker R. Considering the cost of a simultaneous versus staged approach to resection of colorectal cancer with synchronous liver metastases in a publicly funded healthcare model. 2018.

196. Vallance AE, van der Meulen J, Kuryba A et al. The timing of liver resection in patients with colorectal cancer and synchronous liver metastases: a population-based study of current practice and survival. *Colorectal Dis* 2018.

197. Bova R, Kamphues C, Neuhaus P, Puhl G. [Impact of time of occurrence of liver metastases (synchronous vs. metachronous) on early postoperative outcome and long-term survival of colorectal cancer patients]. *Zentralbl Chir* 2014; 139: 220-225.

198. Tam HH, Collins DJ, Brown G et al. The role of pre-treatment diffusion-weighted MRI in predicting long-term outcome of colorectal liver metastasis. *Br J Radiol* 2013; 86: 20130281.

199. Aparicio T, Linot B, Le Malicot K et al. FOLFIRI+bevacizumab induction chemotherapy followed by bevacizumab or observation in metastatic colorectal cancer, a phase III trial (PRODIGE 9--FFCD 0802). *Dig Liver Dis* 2015; 47: 271-272.

200. Nishioka Y, Moriyama J, Matoba S et al. Prognostic Impact of Adjuvant Chemotherapy after Hepatic Resection for Synchronous and Early Metachronous Colorectal Liver Metastases. *Dig Surg* 2017.

201. Goey KK, t Lam-Boer J, de Wilt JH et al. Significant increase of synchronous disease in first-line metastatic colorectal cancer trials: Results of a systematic review. *Eur J Cancer* 2016; 69: 166-177.

202. Gavriilidis P, Sutcliffe RP, Hodson J et al. Simultaneous versus delayed hepatectomy for synchronous colorectal liver metastases: a systematic review and meta-analysis. *HPB (Oxford)* 2018; 20: 11-19.

203. Reding D, Pestalozzi BC, Breitenstein S et al. Treatment strategies and outcome of surgery for synchronous colorectal liver metastases. *Swiss Med Wkly* 2017; 147: w14486.
204. De Rosa A, Gomez D, Brooks A, Cameron IC. "Liver-first" approach for synchronous colorectal liver metastases: is this a justifiable approach? *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 263-270.
205. Valdimarsson VT, Syk I, Lindell G et al. Outcomes of liver-first strategy and classical strategy for synchronous colorectal liver metastases in Sweden. *HPB (Oxford)* 2017.
206. Adam R, de Gramont A, Figueras J et al. Managing synchronous liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Cancer Treat Rev* 2015; 41: 729-741.
207. Adam R, De Gramont A, Figueras J et al. The oncosurgery approach to managing liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Oncologist* 2012; 17: 1225-1239.
208. Yin Z, Liu C, Chen Y et al. Timing of hepatectomy in resectable synchronous colorectal liver metastases (SCRLM): Simultaneous or delayed? *Hepatology* 2013; 57: 2346-2357.
209. Vigano L, Pedicini V, Comito T et al. Aggressive and Multidisciplinary Local Approach to Iterative Recurrences of Colorectal Liver Metastases. *World J Surg* 2018.
210. Hand F, Sanabria Mateos R, Durand M et al. Multivisceral Resection for Locally Invasive Colorectal Liver Metastases: Outcomes of a Matched Cohort Analysis. *Dig Surg* 2018.
211. Hwang M, Jayakrishnan TT, Green DE et al. Systematic review of outcomes of patients undergoing resection for colorectal liver metastases in the setting of extra hepatic disease. *Eur J Cancer* 2014; 50: 1747-1757.
212. Andres A, Mentha G, Adam R et al. Surgical management of patients with colorectal cancer and simultaneous liver and lung metastases. *Br J Surg* 2015; 102: 691-699.
213. Fong Y. Adjuvant therapy after hepatectomy for colorectal metastases. *Lancet Oncol* 2014; 15: 544-545.

214. Rajakannu M, Magdeleinat P, Vibert E et al. Is Cure Possible After Sequential Resection of Hepatic and Pulmonary Metastases From Colorectal Cancer? *Clin Colorectal Cancer* 2017.
215. Beppu T, Sakamoto Y, Hayashi H, Baba H. Perioperative chemotherapy and hepatic resection for resectable colorectal liver metastases. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2015; 4: 72-75.
216. Nordlinger B, Sorbye H, Glimelius B et al. Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery versus surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer (EORTC Intergroup trial 40983): a randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 1007-1016.
217. Imai K, Castro Benitez C, Allard MA et al. Potential of a cure in patients with colorectal liver metastases and concomitant extrahepatic disease. *J Surg Oncol* 2017; 115: 488-496.
218. Zakaria S, Donohue JH, Que FG et al. Hepatic resection for colorectal metastases: value for risk scoring systems? *Ann Surg* 2007; 246: 183-191.
219. Ueno H, Konishi T, Ishikawa Y et al. Prognostic value of poorly differentiated clusters in the primary tumor in patients undergoing hepatectomy for colorectal liver metastasis. *Surgery* 2015; 157: 899-908.
220. Schindl M, Wigmore SJ, Currie EJ et al. Prognostic scoring in colorectal cancer liver metastases: development and validation. *Arch Surg* 2005; 140: 183-189.
221. Lise M, Bacchetti S, Da Pian P et al. Patterns of recurrence after resection of colorectal liver metastases: prediction by models of outcome analysis. *World J Surg* 2001; 25: 638-644.
222. Schreckenbach T, Malkomes P, Bechstein WO et al. The clinical relevance of the Fong and the Nordlinger scores in the era of effective neoadjuvant chemotherapy for colorectal liver metastasis. *Surg Today* 2015; 45: 1527-1534.
223. Nagashima I, Takada T, Adachi M et al. Proposal of criteria to select candidates with colorectal liver metastases for hepatic resection: comparison of our scoring system to the positive number of risk factors. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6305-6309.

224. Gayowski TJ, Iwatsuki S, Madariaga JR et al. Experience in hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of clinical and pathologic risk factors. *Surgery* 1994; 116: 703-710; discussion 710-701.
225. Petrowsky H, Gonen M, Jarnagin W et al. Second liver resections are safe and effective treatment for recurrent hepatic metastases from colorectal cancer: a bi-institutional analysis. *Ann Surg* 2002; 235: 863-871.
226. Araujo RL, Gonen M, Allen P et al. Positive postoperative CEA is a strong predictor of recurrence for patients after resection for colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 3087-3093.
227. Angelsen JH, Viste A, Loes IM et al. Predictive factors for time to recurrence, treatment and post-recurrence survival in patients with initially resected colorectal liver metastases. *World J Surg Oncol* 2015; 13: 328.
228. Okimoto S, Kobayashi T, Tashiro H et al. Significance of the Glasgow Prognostic Score for patients with colorectal liver metastasis. *Int J Surg* 2017; 42: 209-214.
229. Nakagawa K, Tanaka K, Nojiri K et al. The modified Glasgow prognostic score as a predictor of survival after hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 1711-1718.
230. Fong Y, Fortner J, Sun RL et al. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 1999; 230: 309-318; discussion 318-321.
231. Vigano L, Darwish SS, Rimassa L et al. Progression of Colorectal Liver Metastases from the End of Chemotherapy to Resection: A New Contraindication to Surgery? *Ann Surg Oncol* 2018.
232. Dupre A, Rehman A, Jones RP et al. Validation of clinical prognostic scores for patients treated with curative-intent for recurrent colorectal liver metastases. *J Surg Oncol* 2018.
233. Vigano L, Capussotti L, Lapointe R et al. Early recurrence after liver resection for colorectal metastases: risk factors, prognosis, and treatment. A LiverMetSurvey-based study of 6,025 patients. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 1276-1286.

234. Imai K, Allard MA, Benitez CC et al. Early Recurrence After Hepatectomy for Colorectal Liver Metastases: What Optimal Definition and What Predictive Factors? *Oncologist* 2016; 21: 887-894.
235. Ioannou M, Kouvaras E, Papamichali R et al. Smad4 and epithelial-mesenchymal transition proteins in colorectal carcinoma: an immunohistochemical study. *J Mol Histol* 2018.
236. Xiong H, Hong J, Du W et al. Roles of STAT3 and ZEB1 proteins in E-cadherin down-regulation and human colorectal cancer epithelial-mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2012; 287: 5819-5832.
237. Ji Q, Liu X, Han Z et al. Resveratrol suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer through TGF-beta1/Smads signaling pathway mediated Snail/E-cadherin expression. *BMC Cancer* 2015; 15: 97.
238. Yun JA, Kim SH, Hong HK et al. Loss of E-Cadherin expression is associated with a poor prognosis in stage III colorectal cancer. *Oncology* 2014; 86: 318-328.
239. Kokkinos MI, Wafai R, Wong MK et al. Vimentin and epithelial-mesenchymal transition in human breast cancer--observations in vitro and in vivo. *Cells Tissues Organs* 2007; 185: 191-203.
240. Ibrahim HM, AbdElbary AM, Mohamed SY. Prognostic Value of Cyclin D1 and CD44 Expression in Gastric Adenocarcinoma. 2018.
241. Mahmud H, Kasai T, Khayrani AC. Targeting Glioblastoma Cells Expressing CD44 with Liposomes Encapsulating Doxorubicin and Displaying Chlorotoxin-IgG Fc Fusion Protein. 2018; 19.
242. Boxberg M, Gotz C, Haidari S et al. Immunohistochemical expression of CD44 in oral squamous cell carcinoma in relation to histomorphologic parameters and clinicopathological factors. *Histopathology* 2018.
243. Baranwal S. Commentary: HNRNPLL, a newly identified colorectal cancer metastasis suppressor, modulates alternative splicing of CD44 during epithelial-mesenchymal transition. *Front Cell Dev Biol* 2017; 5: 91.
244. Iseki Y, Shibutani M, Maeda K et al. Significance of E-cadherin and CD44 expression in patients with unresectable metastatic colorectal cancer. *Oncol Lett* 2017; 14: 1025-1034.

245. Saito S, Okabe H, Watanabe M et al. CD44v6 expression is related to mesenchymal phenotype and poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Oncol Rep* 2013; 29: 1570-1578.
246. Stotz M, Herzog SA, Pichler M et al. Cancer Stem Cell Gene Variants in CD44 Predict Outcome in Stage II and Stage III Colon Cancer Patients. *Anticancer Res* 2017; 37: 2011-2018.
247. Bauer KM, Hummon AB, Buechler S. Right-side and left-side colon cancer follow different pathways to relapse. *Mol Carcinog* 2012; 51: 411-421.
248. Kesari MV, Gaopande VL, Joshi AR et al. Immunohistochemical study of MUC1, MUC2 and MUC5AC in colorectal carcinoma and review of literature. *Indian J Gastroenterol* 2015; 34: 63-67.
249. Betge J, Schneider NI, Harbaum L et al. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance. *Virchows Arch* 2016; 469: 255-265.
250. Elzagheid A, Emaetig F, Buhmeida A et al. Loss of MUC2 expression predicts disease recurrence and poor outcome in colorectal carcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34: 621-628.
251. Lugli A, Zlobec I, Baker K et al. Prognostic significance of mucins in colorectal cancer with different DNA mismatch-repair status. *J Clin Pathol* 2007; 60: 534-539.
252. Kang H, Min BS, Lee KY et al. Loss of E-cadherin and MUC2 expressions correlated with poor survival in patients with stages II and III colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 711-719.
253. Walsh MD, Clendenning M, Williamson E et al. Expression of MUC2, MUC5AC, MUC5B, and MUC6 mucins in colorectal cancers and their association with the CpG island methylator phenotype. *Mod Pathol* 2013; 26: 1642-1656.

